

# Zur Lichtreaktion der isolierten Froschiris

von

**Luzia GLAUS-MOST**

Zoologische Anstalt der Universität Basel

Mit 15 Textabbildungen und 16 Tabellen

## INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung . . . . .	800
Material . . . . .	802
Histologische Untersuchung . . . . .	802
Experimentelle Methoden . . . . .	803
I. CHARAKTERISIERUNG DER LICHTREAKTION . . . . .	805
1. Versuchsbedingungen . . . . .	805
2. Allgemeine Charakterisierung . . . . .	805
3. Reizabhängigkeit der Reaktion . . . . .	806
A) Kontraktionsamplitude B) Kontraktionszeit C) Halbwertszeit der Relaxation	
4. Jahreszeitliche Schwankungen . . . . .	809
5. Diskussion . . . . .	810
II. TEMPERATURABHÄNGIGKEIT DER LICHTREAKTION . . . . .	811
1. Versuchsbedingungen . . . . .	811
2. Der Temperaturquotient . . . . .	811
3. Ergebnisse . . . . .	812
4. Diskussion . . . . .	813
III. BEEINFLUSSUNG DER LICHTREAKTION DURCH LANGDAUERENDE VORBELEUCHT- UNG . . . . .	814
1. Versuchsbedingungen . . . . .	814
2. Ergebnisse . . . . .	814
3. Diskussion . . . . .	816

IV. IONENMILIEU UND LICHTREAKTION . . . . .	818
1. Versuchsbedingungen . . . . .	818
A) Variationen des Calciums B) Variationen des Kaliums	
2. Ergebnisse. . . . .	820
3. Diskussion . . . . .	822
V. DIE WIRKUNGEN VEGETATIVER PHARMAKA AN DER ISOLIERTEN FROSCHIRIS	825
1. Versuchsbedingungen . . . . .	825
2. Cholinerge Rezeptoren . . . . .	826
A) Ergebnisse B) Diskussion	
3. Adrenerge Rezeptoren . . . . .	827
A) Ergebnisse B) Diskussion C) Serotonin und Melatonin	
VI. PHARMAKA UND LICHTREAKTION . . . . .	833
1. Versuchsbedingungen . . . . .	833
2. Ergebnisse. . . . .	834
A) Pharmaka des vegetativen Systems B) Melatonin und Serotonin	
C) Katecholamine D) Reserpin E) Effekt unterschiedlicher Temperaturen	
F) Spezifische Hemmstoffe	
3. Diskussion . . . . .	839
Schluss . . . . .	842
Zusammenfassung . . . . .	843
Bibliographie . . . . .	845

## EINLEITUNG

Treffen Lichtstrahlen das Auge eines dunkeladaptierten Vertebraten, so kontrahiert die Iris in Abhängigkeit von der Belichtung. Dieser Pupillenreflex ist an die intakte neurale Beziehung zwischen Auge und Mesencephalon gebunden. Das Phänomen ist das Endglied in einer Kette von Reflexen, deren Gesamtheit ein Regelsystem zur Aufrechterhaltung optimaler Beleuchtung der Retina darstellt. Als Rezeptoren für die Beleuchtungsintensität dienen die Sehzellen der Retina mit ihren photolabilen Pigmenten. Die neuronalen Afferenzen werden im Mesencephalon umgeschaltet; die efferenten Bahnen führen zu den m. sphincter und dilatator pupillae. Diese Muskelantagonisten sorgen für die Einstellung einer neuen Pupillenfläche und damit für eine Regulation der Lichtmenge, die die Retina erreicht (REIN 1960).

Wird die Iris eines Frosches isoliert, so zeigt sie erstaunlicherweise ein vergleichbares Phänomen: Die Muskulatur kontrahiert auf einen Lichtreiz hin, obwohl sie mit den übrigen Partnern des vorhin genannten Pupillarreflexbogens nicht mehr verbunden ist. Für dieses isolierte Irisgewebe muss also ein Mechanismus postuliert werden, der dem klassischen Reflex des intakten Tieres entspricht.

Es muss angenommen werden, dass die Iris über photorezeptive Elemente verfügt. Zudem muss in der Iris der Reiz umgewandelt und an den Effektor, d.h. die Muskulatur, weitergegeben werden. Mit dem Effektor des klassischen Reflexbogens übereinstimmend, sorgen diese Muskeln für eine Veränderung der Pupillenfläche.

Das Phänomen wurde von ARNOLD (1841)<sup>1</sup> zum ersten Male beschrieben. Die isolierte Iris kontrahierte bei Sonnenbestrahlung. ARNOLD wertete den Tatbestand als eine Automatie, die allen sympathisch innervierten Organen eigen sei. BROWN-SEQUARD (1847, 1859) beschrieb unabhängig davon die Photosensibilität der Kaltblüteriris. Nach seiner Meinung war die Irismuskulatur als solche lichtempfindlich. Dieser Interpretation schlossen sich eine Reihe anderer Autoren an (MUELLER 1859, SCHUR 1868, GYSI 1879, NEPVEU 1907, STUDNITZ 1932). BUDGE (1855) vermochte dagegen nicht, die Experimente mit gleichem Erfolg zu wiederholen. Er hielt die Retina oder die Linse des Kaltblüterauges für ein mögliches Reflexzentrum. Auch EDGREN (1879) postulierte einen intraocularen Reflexbogen für die Pupillenreaktion.

Mit einer experimentell gut belegten Arbeit gelangte STEINACH (1892) zu dem Schluss, die pigmentierten Muskelfasern des Spincter pupillae des Frosches seien die Ursache dieses Kontraktionsvermögens. GUTH (1901) versuchte, STEINACHS Hypothese zu stützen. Ihr hatte bereits MAGNUS (1899) widersprochen. Im Gegensatz zu STEINACH war es diesem gelungen, die Lichtreaktion der isolierten Iris mit Atropin zu unterbinden. Daraus, so schloss er, ergebe sich, dass ein intrairidialer Reflexbogen für die Pupillenveränderung verantwortlich sein müsse.

VAN HERK (1928) untersuchte die Photosensibilität der isolierten Iriden von Vertretern aller Wirbeltierklassen. Die Froschiris zeigte nach seinen Befunden ein Maximum an Empfindlichkeit im Licht von 500-530 nm Wellenlänge. Zu einem ähnlichen Ergebnis gelangten BARR und ALPERN (1963). Sie erblickten in der Uebereinstimmung der maximalen Empfindlichkeit mit dem Absorptionsmaximum des Rhodopsins einen Hinweis auf die Beteiligung dieses Pigments an der Lichtkontraktion. Allerdings hatte WEALE (1956) die grösste Photosensibilität der isolierten Iris bei Licht von 420 nm Wellenlänge gefunden, was nicht mit dem Absorptionsmaximum von Rhodopsin übereinstimmt. Es kann also heute als gesichert gelten, dass die Lichtempfindlichkeit der Froschiris abhängig von der Wellenlänge ist. Die gefundenen Beziehungen zwischen beiden Grössen sind jedoch methodenabhängig; die Natur des Licht absorbierenden Pigments ist damit noch ungeklärt.

Die Abhängigkeit des Lichtreflexes der isolierten Froschiris von weiteren Faktoren zu untersuchen, war die Aufgabe dieser Arbeit.

---

<sup>1</sup> Der Autor berichtet darüber in einem Abschnitt über die vom Sympathicus innervierten Organe, nicht etwa im Kapitel über die Irisbewegungen. Dies ist wohl der Grund dafür, dass BARR und ALPERN (1963) den Passus nicht gefunden haben.

Herrn Professor Dr. E. Flückiger danke ich für die Problemstellung und für die Anleitung. Es ist mir ein Bedürfnis, Herrn P. D. Dr. med. A. Cerletti zu danken für die Gastfreundschaft, die mir und meinen Tieren in den Laboratorien der Med.-biol. Forschung der Firma Sandoz AG gewährt wurde, sowie für die Anregungen, die sich aus dem Kontakt mit seinen Mitarbeitern ergaben.

### MATERIAL

Alle Untersuchungen wurden an isolierten Iriden von *Rana temporaria* und *Rana esculenta* durchgeführt. Die Frösche stammten aus Weiern des benachbarten Elsass. In Basel lebten sie in metallenen Tanks, die von wenig Wasser durchspült wurden. Im Aufenthaltsraum der Tiere herrschte eine Temperatur von  $+5^{\circ}\text{C}$  sowie Dunkelheit. Durch die so erzwungene Hibernation überlebten die Frösche im allgemeinen ein halbes Jahr.

Zum Experimentieren wurden Tiere mit einem durchschnittlichen Gewicht von 35-40 g verwendet. Die Frösche wurden durch rasches Dekapitieren getötet und ihr Rückenmark ausgebohrt. Die Augenbulbi wurden sofort aus dem Schädel geschnitten und in eisgekühlte Ringerlösung für Kaltblüter gebracht. Dann wurden die Sklera und die Retina entfernt und die Linse vorsichtig herausgeschnitten, sodass die Iris nur mit der Hornhaut verbunden blieb. Auch die Cornea wurde hierauf durch einen kreisförmigen Schnitt von der Iris getrennt.

### HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG

Die Iris der beiden *Rana*-Arten ist eine flache, ovale Scheibe von beträchtlicher Beweglichkeit. Auch die Pupille ist annähernd elliptisch mit einer spitzen, ventralen Ausbuchtung. Diese Grundform bleibt erhalten, auch wenn die Pupille ihre Grösse verändert. In toto betrachtet, fällt die reiche Pigmentierung der Iris ins Auge. Auf dem dunklen Hintergrund des Melanins leuchtet das metallische Goldgelb der Iridocyten. Dieses findet sich geballt am Pupillarrand und ist im übrigen Teil der Iris unregelmässig verteilt. Rückwärtig, d.h. in vivo gegen die Linse gelegen, können mit einiger Mühe radiär verlaufende Fältelungen erkannt werden.

Die starke Pigmentierung des Irisgewebes verursachte grosse Schwierigkeiten bei der histologischen Untersuchung, sodass die Bleichung des Melanins nach KOPSCH (ROMEIS 1928) an den aufgeklebten Schnitten nötig wurde. Die Färbbarkeit des Materials nach dieser Prozedur war minim; es wurde nur die einfache Eisenhämalaun-Benzopurpurin-Farbkombination gewählt. Im histologischen Präparat stellt die Froschiris eine schmale Gewebsschicht dar, die, mit Ausnahme des Pupillarsaumes, stark gefältelt ist. Praktisch in jeder Falte, auch im Irisstroma, liegen Blutgefässe. Eine spezifische Bildung scheinen die am dorsalen und ventralen



Pupillarrand gelegenen Pupillarknoten darzustellen. Nach WALLS (1963) dienen sie der Bewegung der Iris auf der Linse. Gegen die hintere Augenkammer bilden zwei Zellschichten den Abschluss: die pars iridica retinae und das eigentliche Pigmentepithel. Zur vorderen Augenkammer ist die Grenze undeutlich durch eine endothelartige Schicht angedeutet. Dazwischen liegt das Stroma, in das die schon erwähnten Blutgefässe sowie Melanocyten und Iridocyten und die glatte Muskulatur eingebettet sind. Am Pupillenrand liegt der relativ starke Verband des m. sphincter pupillae, dessen Muskelzüge zirkulär verlaufen. Im nicht gebleichten Schnitt erscheint diese Region vollständig von Melanin überdeckt. Gegen die Peripherie hin finden sich vereinzelt radiär liegende Muskelzellen des m. dilatator pupillae. Methylenblaufärbung und anschliessendes, vorsichtiges Bleichen lassen eine reiche Nervenversorgung der Iris erkennen.

#### EXPERIMENTELLE METHODEN

Die für die experimentellen Untersuchungen entwickelte Technik gestattete es, kleine Veränderungen der Pupillengrösse reproduzierbar darzustellen (Abb. 1). Die Iris wurde zu diesem Zweck in einer Kammer, deren Volumen  $0,5 \text{ cm}^3$  betrug, auf vier Metallstacheln aufgehängt. Die Kammer wurde durch kleine Schläuche und einen Hahn mit einer auswechselbaren Injektionsspritze verbunden, die für das Durchströmen der Lösung sorgte. Die Pupillenöffnung der Froschiris lag zwischen zwei Plexiglasfenstern der Kammer. Veränderungen der Pupillenweite wurden indirekt mittels folgender Einrichtung beobachtet und gemessen: Unterhalb der Kammer befand sich als Lichtquelle eine starke Fadenlampe. Sie war mit einem Konstanter (GOSSEN, Modell 18) verbunden, der für eine gleichmässige Ausgangsspannung der Lampe sorgte. Die Lichtstrahlen wurden durch eine Linse gesammelt. Eine Schlitzscheibe, von einem Synchronmotor angetrieben besorgte die Zerlegung der Lichtstrahlen in Einzelsignale bestimmter Frequenz. Diese trafen schliesslich, nachdem sie die Pupillenöffnung und das obere Kammerfenster passiert hatten, auf ein Photoelement (Fa. PHILIPS). Die induzierte Spannung des Photoelements wurde auf einem Oszilloskop sichtbar gemacht. Die Empfindlichkeit des Systems wurde so gewählt, dass sich auch kleinste Lichtschwankungen, die durch Pupillenveränderungen hervorgerufen wurden, darstellen liessen. Vorversuche mit Blenden verschiedener Durchmesser ergaben eine lineare Abhängigkeit der vom Photoelement entwickelten Spannungen von der einfallenden Lichtmenge.

Für die schnell ablaufende Lichtkontraktion wurde statt des Oszilloskops ein kontinuierlich registrierender Kompensationsschreiber (W+W Electronic, Basel, HI-SPEED-RECORDER, Typ HU) gewählt. Die Zerlegung des Lichtes in Einzelsignale wurde damit überflüssig. Die Spannung, die dem Photoelement abgenommen wurde, konnte durch einen Potentiometer reduziert und der

Empfindlichkeit des Schreibers angepasst werden. Lichtdurchtritt durch die Pupille und entwickelte Spannungen des Photoelements standen, wie Vorversuche mit Blenden verschiedener Durchmesser zeigten, in einem linearen Abhängigkeitsverhältnis.

Die Kontraktionen wurden mittels einer Lupenlampe (BAUSCH & LOMB, 31-33-53) ausgelöst, die Beleuchtungsstärken von 922, 1592 und 1968 Lux lieferte.

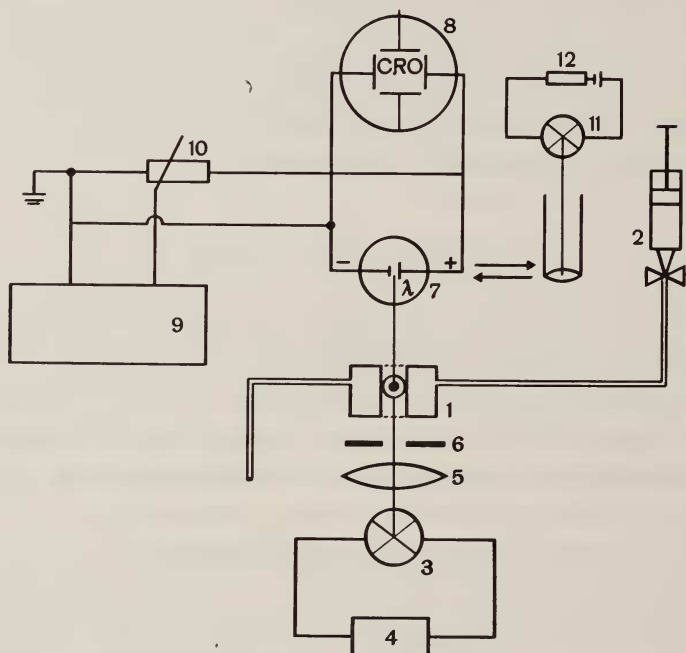


ABB. 1.

Anordnung zum Messen von Pupillenveränderungen der isolierten Froschiris. 1 Kammer, 2 Injektionsspritze, 3 Fadenlampe, 4 Konstanter, 5 Linse, 6 Schlitz, 7 Photoelement, 8 Oszilloskop, 9 Kompensationschreiber, 10 Potentiometer, 11 Lupenlampe, 12 Schaltuhr.

Eine Beleuchtungsstärke von 65 Lux wurde durch Vorschalten eines Graufilters (KODAK, Wratten Gelatine Filter, 96) erreicht. Das Eichen der Lichtquelle geschah mit einem Luxmeter-(AG für Messapparate, Bern). Die Reizlichtdauer konnte mittels einer Schaltuhr („Hirsch“ BS 512, BAEUERLE & Söhne, St. Georgen) eingestellt werden. Durch das obere Fenster der kleinen Kammer wurde die Vorderfläche der Iris mit dem Reizlicht bestrahlt. Photoelement und Lupenlampe waren auf einem schwenkbaren Arm befestigt, der um eine Achse so bewegt werden konnte, dass sich Messinstrument oder Reizlichtquelle genau über dem Plexiglasfenster der Kammer befanden. Für die Zeit der Belichtung musste das Photoelement also ausgeschwenkt werden.

Die Ringerlösung, die gewöhnlich die Kammer mit der aufgehängten Iris durchspülte, hatte folgende Zusammensetzung: 116 mM NaCl; 2,7 mM KCl; 1,4  $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ ; 11,1 mM Glukose. Als Puffer wurde ein Phosphatpuffer nach SOERENSEN verwendet. Der pH-Wert der Lösung betrug 7,0-7,2. Die Experimente fanden (so nicht anders vermerkt) bei Zimmertemperatur (etwa 22° C) statt.

Bezüglich Einzelheiten der Versuchsanordnung muss auf die speziellen Kapitel verwiesen werden.

## I. CHARAKTERISIERUNG DER LICHTREAKTION

### 1. VERSUCHSBEDINGUNGEN

In dieser Versuchsreihe wurde die Abhängigkeit der Lichtreaktion der isolierten Iris von Intensität und Dauer des Reizlichtes untersucht. Als Beleuchtungsstärken wurden 65, 922, 1592 und 1968 Lux gewählt. Die Expositionszeiten wurden im Bereich zwischen 0,2 und 3,2 Sekunden sowie 15 Sekunden und 12 Minuten verändert. Pro Lichtdosis wurden die Iriden fünf bzw. drei verschiedener Tiere getestet. Die Experimente wurden im September 1966 und im Januar 1967 durchgeführt.

### 2. ALLGEMEINE CHARAKTERISIERUNG

Wird die Vorderfläche der Iris kurzfristig belichtet, so vollzieht das Organ eine rasche Kontraktion, die zu einer wesentlichen Verkleinerung der Pupillenfläche führt. Nach Ueberschreiten der Kontraktionsamplitude folgt eine exponentiell verlaufende Phase der Wiedererweiterung, die schliesslich im Verlauf einiger Minuten in der Ruhepupillenweite ausklingt. Abbildung 2 stellt die Nachzeichnung einer Originalkurve eines solchen Vorganges dar. Die Charakterisierung der Lichtreaktion gelang mit Hilfe dreier Kriterien (Abb. 2):

1) Kontraktionsamplitude (A). Sie wird in Prozent der Ruhepupillenweite ausgedrückt.

2) Kontraktionszeit ( $t_K$ ). Es ist die Zeit, die zwischen Reizbeginn und maximaler Kontraktion verstreicht. Aus technischen Gründen konnte bei dieser Versuchsanordnung die Latenzzeit nicht bestimmt werden. Aus Kontraktionsamplitude und Kontraktionszeit wurde ein Quotient  $A/t_K$  gebildet, der als Mass für die Geschwindigkeit der Reaktion verwendet wird.

3) Halbwertszeit ( $T_{A/2}$ ) der Relaxation. Sie erfasst die Zeit, die verstreicht, bis sich die Pupille um den halben Wert der Kontraktionsamplitude wiedererweitert hat.

Nach einigen Minuten im Dunkel der Kammer hat die Pupille im allgemeinen die Ausgangsweite zurückgewonnen. Zehn Minuten nach Auslösung des ersten Reizes kann ein neuer Reiz appliziert werden.

Bei Beleuchtung der hinteren Irisfläche reagiert das Organ nicht.

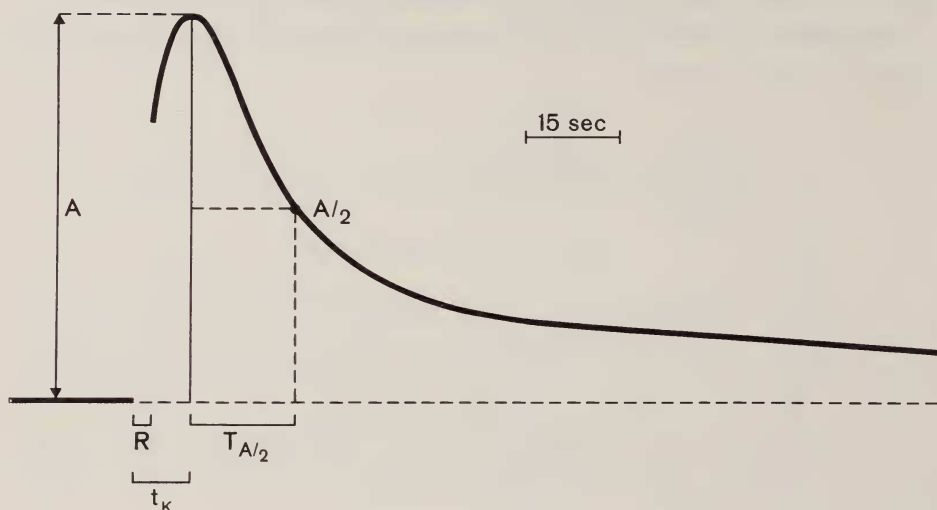


ABB. 2

Lichtreaktion der isolierten Froschiris.

A Kontraktionsamplitude,  $t_K$  Kontraktionszeit,  $T_{A/2}$  Halbwertszeit der Relaxation, R Lichtreiz

### 3. REIZABHÄNGIGKEIT DER REAKTION

#### A) Die Kontraktionsamplitude (A)

Die Abhängigkeit der Kontraktionsamplitude von den vier Beleuchtungsstärken bei verschiedenen langen Expositionszeiten zeigt Abbildung 3. Für jeden der Lux-Werte wachsen die Amplitudengrößen mit steigender Reizdauer zuerst rasch und erreichen dann ein Maximum. Bei 65 Lux beträgt die maximale Kontraktionsamplitude rund 30% der Ruhepupillenweite, bei 1968 Lux erreicht die Iris eine maximale Kontraktion von rund 50%. Diese Reaktionen lassen sich auch durch eine verlängerte Reizdauer nicht mehr erhöhen.

Wird die Abhängigkeit der Kontraktionsamplitude vom Logarithmus des Produktes Beleuchtungsstärke  $\times$  Expositionszeit dargestellt (Tab. 1, Abb. 4), so zeigt sich, dass die Amplitudengröße zunächst linear zunimmt. Erst bei relativ hohen Reizen erreicht die Amplitude mit etwa 50% der Ruhepupillenweite eine obere Grenze. Die Kontraktionsamplituden der Organe, die langdauernden Reizen ausgesetzt waren, werden geringer, je länger das Licht die Iris getroffen hat (Tab. 1, Abb. 4).

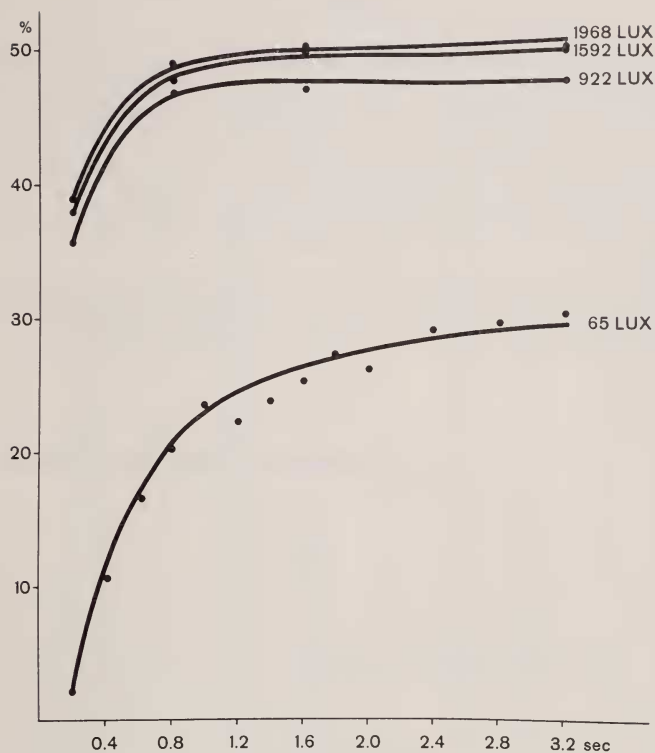


ABB. 3

Abhängigkeit der Kontraktionsamplitude von Beleuchtungsstärke und Expositionsdauer.

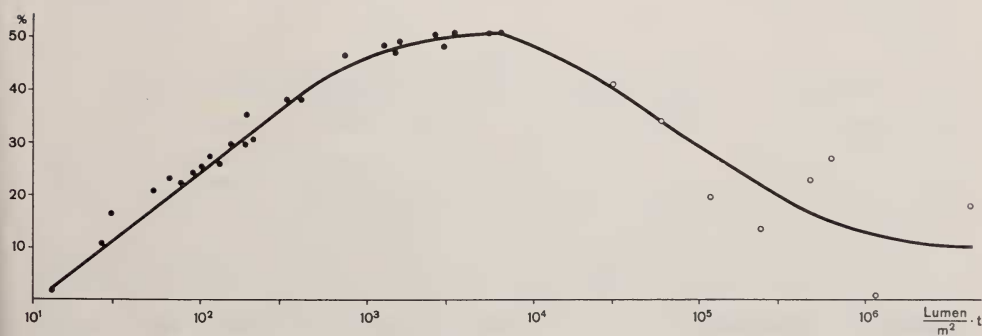


ABB. 4

Abhängigkeit der Kontraktionsamplitude von der Beleuchtungsstärke; semilogarithmische Darstellung.



### B) Die Kontraktionszeit ( $t_K$ )

Die Kontraktionszeit (sec) nimmt ebenfalls mit steigender Reizdosis zu. Tabelle 1 zeigt, dass sich in einer ersten Gruppe (in der Tabelle mit \* gekennzeichnet) die Werte zwischen 3,9 und 7,5 Sekunden, in einer zweiten Gruppe (in der Tabelle mit \*\* gekennzeichnet) zwischen 3,7 und 5,3 Sekunden bewegen. Abbildung 5 lässt die lineare Abhängigkeit der Kontraktionszeit vom Logarithmus der Reizgrösse erkennen. Die beiden Gruppen von Zeitwerten werden unten diskutiert werden.

Die Kontraktionsgeschwindigkeit ( $A/t_K$ ) ist im untersuchten Reizstärkebereich für eine Tiergruppe (Tab. 1 \* oder \*\*) jeweils konstant (Abb. 5).

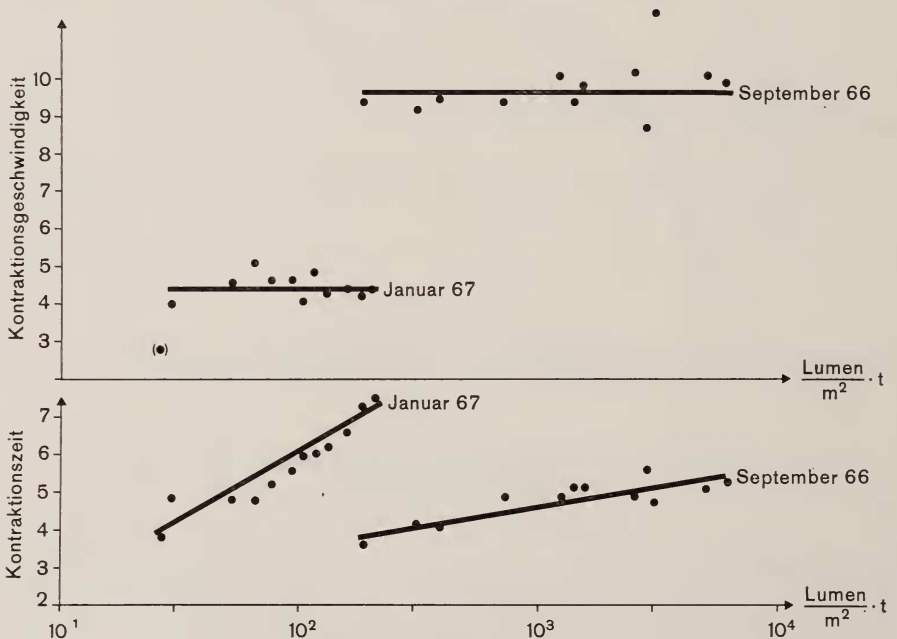


ABB. 5

Abhängigkeit der Kontraktionszeit und der Kontraktionsgeschwindigkeit von der Beleuchtungsstärke. Semilogarithmisch.

### C) Die Halbwertszeit der Relaxation ( $T_{A/2}$ )

Die Halbwertszeit der Relaxationsphase (Tab. 1) zeigt im Gegensatz zu den Werten der beiden anderen Kriterien keine Abhängigkeit von der Grösse des Lichtreizes. In der durch \* markierten Gruppe beträgt die Halbwertszeit zwischen 10,9 und 16,9 sec, im Durchschnitt 14,6 sec; in der durch \*\* bezeichneten Gruppe beträgt sie zwischen 9,2 und 12,1 sec, durchschnittlich 11,5 sec.

TABELLE 1

*Die Lichtreaktion der isolierten Froschiris*

	Reiz Lumen $\times$ t m <sup>2</sup>	Kontraktions- amplitude (%) $\bar{x}$ $\pm s$	Kontraktions- zeit (sec) $\bar{x}$ $\pm s$	Halbwertszeit der Relaxation (sec) $\bar{x}$ $\pm s$
1*	26	10,6	3,9	10,9
2*	29	16,9 $\pm$ 5,8	4,8 $\pm$ 1,3	14,5 $\pm$ 2,5
3*	52	20,6	4,8	15,0
4*	65	23,4	4,8	14,1
5*	78	22,3 $\pm$ 5,6	5,2 $\pm$ 1,2	14,7 $\pm$ 2,6
6*	91	24,5	5,6	15,3
7*	104	25,4	6,0	14,4
8*	117	27,3 $\pm$ 6,7	6,0 $\pm$ 1,1	14,6 $\pm$ 1,6
9*	130	26,3	6,2	14,3
10*	156	29,3 $\pm$ 6,9	6,8 $\pm$ 1,1	15,9 $\pm$ 1,7
11*	182	29,8	7,2	15,0
12**	184	35,7 $\pm$ 11,4	3,7 $\pm$ 0,2	9,8 $\pm$ 2,1
13*	208	30,6	7,5	16,9
14**	318	38,1 $\pm$ 8,4	4,1 $\pm$ 0,7	11,6 $\pm$ 3,4
15**	392	38,9 $\pm$ 12,1	4,1 $\pm$ 0,5	11,1 $\pm$ 2,7
16**	737	46,8 $\pm$ 10,3	4,9 $\pm$ 0,2	9,3 $\pm$ 3,9
17**	$1,3 \times 10^3$	48,3 $\pm$ 8,9	4,8 $\pm$ 0,3	11,1 $\pm$ 3,4
18**	$1,5 \times 10^3$	47,8 $\pm$ 10,2	5,1 $\pm$ 0,3	10,7 $\pm$ 2,7
19**	$1,6 \times 10^3$	49,1 $\pm$ 9,6	5,1 $\pm$ 0,5	10,2 $\pm$ 3,2
20**	$2,6 \times 10^3$	50,3 $\pm$ 11,6	4,9 $\pm$ 0,3	12,1 $\pm$ 2,8
21**	$2,9 \times 10^3$	48,4 $\pm$ 11,3	5,6 $\pm$ 0,4	11,6 $\pm$ 2,6
22**	$3,2 \times 10^3$	50,8 $\pm$ 7,5	4,7 $\pm$ 0,7	10,6 $\pm$ 2,4
23**	$5,3 \times 10^3$	50,9 $\pm$ 12,1	5,1 $\pm$ 0,6	9,2 $\pm$ 1,6
24**	$6,3 \times 10^3$	51,0 $\pm$ 8,9	5,3 $\pm$ 0,9	10,9 $\pm$ 2,6
25	$3,0 \times 10^4$	41,1		
26	$6,0 \times 10^4$	34,0		
27	$1,2 \times 10^5$	19,9		
28	$2,4 \times 10^5$	13,7		
29	$4,7 \times 10^5$	23,1		
30	$6,3 \times 10^5$	27,3		
31	$1,2 \times 10^6$	0,9		
32	$1,4 \times 10^6$	18,0		

## 4. JAHRESZEITLICHE SCHWANKUNGEN

Die Experimente, deren Werte in Tabelle 1 dargestellt sind, wurden zwar unter gleichen experimentellen Bedingungen, jedoch zu verschiedenen Jahreszeiten durchgeführt. Die eine Gruppe wurde im September 1966 untersucht (mit \*\* gekennzeichnet), die andere im Januar 1967 (mit \* gekennzeichnet); es handelte sich also um die Iriden von Sommer- und Winterfröschen.

Die beiden Tiergruppen zeigen unterschiedliche Steilheit des Anstieges der Kontraktionszeit mit der Reizstärke: Die Organe der Winterfrösche reagieren langsamer und ihre Kontraktionszeitzunahme ist steiler mit steigender Reizstärke als die der Septemberfrösche (Abb. 5).

## 5. DISKUSSION

Die Reaktion der isolierten Froschiris auf Licht ist, wie auch verschiedene andere Autoren festgestellt haben, ein leicht auszulösender Effekt (vgl. Einleitung).

Das einem Versuchsprotokoll entnommene Bild der Lichtreaktion lässt eine Uebereinstimmung mit den Pupillogrammen menschlicher Pupillenreflexe erkennen (DRISCHEL 1957, HORNUNG & STEGEMANN 1963). Diese Autoren haben mit einer vergleichbaren Methodik die Dynamik des menschlichen Pupillarreflexes *in vivo* untersucht. Im Vergleich zu ihren Ergebnissen sind an der isolierten Froschiris die Geschwindigkeiten der Reaktion deutlich langsamer. Besonders diejenige der Erweiterungsphase ist wesentlich geringer. Eine solche Differenz könnte ihre Ursache in der unterschiedlichen Temperatur des menschlichen Auges *in vivo* und der *in vitro* untersuchten Froschiris haben. Die qualitative Uebereinstimmung der Pupillogramme von Mensch und isolierter Froschiris unterstützt die Annahme, dass der Lichtkontraktion der isolierten Froschiris Elemente zugrunde liegen, welche dem zentralgesteuerten Pupillarreflexbogen funktionell gleichwertig sind.

Die Kontraktionsamplitude zeigt eine annähernd log.-lineare Dosisabhängigkeit. Eine solche Abhängigkeit haben auch HORNUNG und STEGEMANN für den menschlichen Pupillarreflex festgestellt. Bei höheren Reizdosen erreicht die Amplitudengrösse eine Sättigung. Uebersteigt die Reizdauer einen gewissen kritischen Wert, so vermindert sich die Kontraktionsamplitude wieder. Ob dieses Verhalten ein Indiz für einen Adaptionsmechanismus ist, kann anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht entschieden werden. Hinweise dafür sind jedoch aus den in Abbildung 3 dargestellten Resultaten ablesbar. Vielleicht ist die Verminderung der Kontraktionsamplitude jedoch auf eine Erschöpfung eines energieliefernden Systems unter der langdauernden Vorbeleuchtung zurückzuführen (vgl. auch Kapitel III).

Die Kontraktionszeit zeigt innerhalb der beiden Gruppen von Januar- und Septembertieren eine log.-lineare Abhängigkeit von der Reizdosis. Die Werte sind jedoch bei den Iriden der Winterfrösche höher als bei denen der Septembertiere. Im Gegensatz zur Kontraktionsamplitude konnte mit der angewandten Methode kein Maximalwert der Kontraktionszeit gefunden werden.

Die Halbwertszeit der Erweiterungsphase verändert sich bei steigendem Reiz nicht. Die Organe der Januartiere zeigen eine Tendenz zu höheren Werten als die der Septemberfrösche.

Die beschriebenen saisonalen Unterschiede betreffen interessanterweise nicht die Kontraktionsamplitude, sondern die Kontraktionszeit und die Relaxationsphase, also nicht das Ausmass, sondern die Geschwindigkeit der Kontraktion und der Restitutionsphase. Daraus kann geschlossen werden, dass Winter- und Sommerfrösche zwar gleiche Lichtempfindlichkeit zeigen, jedoch der Kontrak-

tionsablauf und die Relaxation beim Winterfrosch langsamer vor sich gehen. Dies deutet auf Stoffwechselunterschiede zwischen den beiden Populationen hin, die auch in der klimatischen Isolation beibehalten werden.

## II. TEMPERATURABHAENGIGKEIT DER LICHTREAKTION

Die in Kapitel I dargestellten Befunde haben gezeigt, dass Kontraktionsamplitude, Kontraktionszeit und Erholungsphase sich unter verschiedenen Bedingungen unterschiedlich verhalten; daraus kann vorsichtig auf unterschiedliche Verknüpfung von Stoffwechselvorgängen mit den verschiedenen Phasen des Pupillarreflexes geschlossen werden. Die im Folgenden dargestellten Versuche sollten eine weitere Differenzierung der einzelnen Phasen ermöglichen.

### 1. VERSUCHSBEDINGUNGEN

Die Iriden wurden von Ringerlösung verschiedener Temperaturen umspült. Eine Temperaturkontrolle erfolgte mit Hilfe eines elektrischen Universalthermometers (Typ TE 3, ELLAB, Kopenhagen). Durch dosierte Eiswasserkühlung wurde die Ringerlösung auf eine um 10° C geringere Temperatur gebracht, als die gleiche Lösung bei Zimmertemperatur aufwies. Ein- und ausgang der kleinen Kammer, in der das Organ aufgehängt war, wurde die Temperatur der Lösung beständig kontrolliert, um eventuelle Abweichungen sofort korrigieren zu können.

An den Iriden wurden nach einer dreissigminütigen Ruheperiode mittels konstanter Reizdosen je fünf Lichtkontraktionen bei beiden Temperaturen ausgelöst. Alternierend begann die Versuchsreihe bei höherer oder bei niedriger Temperatur. Im Mittel lagen die Temperaturwerte bei 22° C bzw. 12° C.

### 2. DER TEMPERATURQUOTIENT

Die Temperatur beeinflusst die Geschwindigkeit einer Reaktion. Diese Abhängigkeit wird in der ARRHENIUSSchen Gleichung formuliert:

$$k = A e^{-\mu/RT}$$

( $k$  = Geschwindigkeitskonstante,  $A$  = Konstante,  $e$  = Basis der natürlichen Logarithmen,  $\mu$  = Aktivierungsenergie, für jede Reaktion konstant,  $R$  = Gas-konstante,  $T$  = absolute Temperatur).

Der Quotient der Geschwindigkeitskonstanten bei zwei Temperaturen, die um 10°C differieren, entspricht dem  $Q_{10}$ -Wert. Im biologischen Experiment werden statt der Geschwindigkeitskonstanten die Reaktionsgrößen gesetzt. Aus der Beziehung, die zwischen dem Temperaturquotienten  $Q_{10}$  und der ARRHENIUSSchen Gleichung besteht, folgt, dass  $Q_{10}$  sich mit der Temperatur verändert. Deshalb

müsste, um eine Reaktion zu charakterisieren, die Abhängigkeit der Reaktionsgrößen von mehreren Temperaturen untersucht werden. Als blosse Vergleichsgrundlage von Reaktionen, deren Größen bei physiologischen Temperaturen gemessen wurden, ist  $Q_{10}$  jedoch ausreichend.

Nach VAN'T HOFF lässt sich der Quotient der Reaktionsgrößen folgendermassen bilden:

$$Q_{10} = \frac{L_1^{\left(\frac{10}{t_1 t_2}\right)}}{L_2}$$

$$\log Q_{10} = \frac{10 (\log L_1 - \log L_2)}{t_1 - t_2}$$

( $L_1$  = Reaktionsgrösse bei der Temperatur  $t_1$ ;  $L_2$  = Reaktionsgrösse bei der Temperatur  $t_2$ ).

Für jedes der drei Kriterien (Kontraktionsamplitude, Kontraktionszeit und Halbwertszeit der Relaxation) wurde nach dieser Regel  $Q_{10}$  berechnet.

### 3. ERGEBNISSE

Plötzliche Temperaturänderungen der Ringerlösung führten in einem Falle zu einer Kontraktion, in vier Fällen zu einer Dilatation der Iris. Nach fünf bis zwanzig Minuten stabilisierte sich die Pupillenweite wieder; erst dann wurde die Lichtreaktion ausgelöst. Die Ergebnisse der Untersuchungen an den Iriden von fünf Tieren sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Die Kontraktionsamplitude ändert sich unter dem Einfluss wechselnder Temperatur nicht, ihr  $Q_{10}$  beträgt im Mittel 0,958. Die Kontraktionszeit hat einen  $Q_{10}$  von 1,654; sie wird also, wenn die Temperatur um  $10^\circ\text{C}$  gesenkt wird, etwas verlängert. Dagegen wird die Erweiterungsphase durch die Temperatursenkung sehr stark beeinflusst; ihr mittlerer  $Q_{10}$  beträgt 2,442.

TABELLE 2

$Q_{10}$ -Werte der Lichtreaktion. Temperatur  $22^\circ\text{C} \rightarrow 12^\circ\text{C}$

	Kontraktions- amplitude	Kontraktions- zeit	Relaxation $T_{A/2}$
	0,855	1,526	2,605
	0,973	1,757	2,107
	0,997	1,981	2,688
	0,908	1,490	1,895
	1,057	1,516	2,918
$\bar{x}$	0,958	1,654	2,442



## 4. DISKUSSION

Für chemische Reaktionen ergeben sich  $Q_{10}$ -Werte zwischen 2 und 4. Physikalische Phänomene (z.B. Diffusion) zeigen  $Q_{10}$ -Werte von 1,1 bis 1,4. Photochemische Primärreaktionen weisen keine Temperaturabhängigkeit auf; sie besitzen einen  $Q_{10}$  von 1 (PRECHT 1955).

Die Kontraktionsamplitude zeigt einen  $Q_{10}$  von 1. Eine solche Temperaturunabhängigkeit ist auffallend. Aus ihr folgt, dass die Grösse der Reizantwort nur durch eine Reaktion vom Typ des photochemischen Primärprozesses bestimmt wird. Stoffwechselprozesse können am Ausmass der Reizantwort nicht begrenzend beteiligt sein. Diese Sachlage stimmt überein mit der in Kapitel I gefundenen Unabhängigkeit der Kontraktionsamplitude von saisonalen Schwankungen. Möglicherweise stammt die Kontraktionsenergie aus einem grossen Energiepool.

$Q_{10}$  der Kontraktionszeit beträgt 1,7. Er gehört damit weder zu den für physikalische noch zu den für chemische Reaktionen typischen Werten. Vielleicht ist es jedoch nicht ganz auszuschliessen, dass es nach physikalischem Reaktionstyp ablaufende Vorgänge gibt, deren  $Q_{10}$  die oben genannten Normen etwas überschreitet. Der  $Q_{10}$ -Wert, den HODGKIN und KEYNES (1955) für einen stoffwechselunabhängig verlaufenden Vorgang, nämlich für den Natrium-Influx am Sepia-Axon, ermittelten, liegt mit 1,4 auch an der oberen Grenze. Stoffwechselprozesse scheinen, dem Quotienten von 1,7 nach zu schliessen, in dieser Phase des Reaktionsablaufes eine relativ geringe Rolle zu spielen. Die temperaturbedingte Verlangsamung der Kontraktionszeit hat möglicherweise mehrere Ursachen: Erstens wäre denkbar, dass die Viskosität des kontraktile Eiweisses durch Senkung der Umgebungstemperatur herabgesetzt und so die Muskelkontraktion verzögert, bzw. die Kontraktionszeit verlängert wird. Zum zweiten könnte es sein, dass die Temperatursenkung die Erregungsbildung und -leitung verlangsamt und  $Q_{10}$  der Kontraktionszeit damit entsprechend erhöht wird.

Die Wiedererweiterungsphase der Irisreaktion zeigt einen  $Q_{10}$ -Wert von 2,4. Aus dieser relativ grösseren Temperaturabhängigkeit kann geschlossen werden, dass das Reaktionsgeschehen dieser Phase in höherem Masse von Stoffwechselvorgängen beeinflusst ist.

Diese kurze Differenzierung der Lichtreaktion mittels der Temperaturänderung erlaubt, folgende Vorstellung vom Geschehen zu entwerfen: Während der Relaxation verlaufen Stoffwechselprozesse; eventuell werden in dieser Reaktionsphase Energiereserven geschaffen, die bei weiteren Lichtreizen neue Kontraktionen ermöglichen. Die Zeit, die bis zur maximalen Kontraktion verstreicht, wird wahrscheinlich von Potentialänderungen an den erregbaren Membranen mitbestimmt. Die Kontraktionsamplitude scheint weitgehend unabhängig von der Temperatur zu sein. Es kann angenommen werden, dass der Kontraktionsamplitude eine photochemische Reaktion zugrundeliegt. Ob sich weitere Anzeichen für einen solchen Reaktionstyp finden lassen, soll im nächsten Kapitel untersucht werden.

### III. BEEINFLUSSUNG DER LICHTREAKTION DURCH LANGDAUERENDE VORBELEUCHTUNG

Wie eben gezeigt, wird die Amplitude der Lichtkontraktion durch einen photochemischen Prozess bestimmt. Ein solcher Prozess setzt die Existenz einer photolabilen Verbindung, die das Licht zu absorbieren vermag, voraus. Ein supramaximaler Lichtreiz müsste die Konzentration eines solchen photolabilen Stoffes herabsetzen, sodass die Photosensibilität der Iris verändert würde. Deshalb soll im Folgenden der Einfluss langdauernder, intensiver Beleuchtung auf die nachfolgende Lichtreaktion untersucht werden.

#### 1. VERSUCHSBEDINGUNGEN

Nach der auf Seite 802 beschriebenen Präparation wurden die Iriden 30 Minuten lang in der dunklen, von Ringerlösung durchströmten Kammer gelassen. Danach wurden zwei oder drei Kontrollreaktionen ausgelöst (1968 Lux, 1,6 Sekunden). Waren die Reaktionen der Organe von gleicher Grösse, so wurden sie mit 1968 Lux während 15 Sekunden bis 12 Minuten belichtet. Einer solchen Vorbeleuchtung schloss sich wiederum eine fünfminütige Dunkelperiode an, worauf das Organ mit 1968 Lux während 1,6 Sekunden gereizt wurde. Dieser Reiz wurde, in zehnminütigem Abstand, sechsmal wiederholt.

Neben der Kontraktionsamplitude und der Halbwertszeit der Relaxation wurde in dieser Versuchsreihe die Kontraktionsgeschwindigkeit, der Quotient aus Kontraktionsamplitude und Kontraktionszeit, als Kriterium benützt (vgl. Kapitel I 2).

Die Ergebnisse des vorliegenden Kapitels stellen Mittelwerte aus Versuchen mit den Iriden je dreier Tiere dar.

#### 2. ERGEBNISSE

Wird die isolierte Iris nach langdauernder Vorbeleuchtung durch einen kurzen Lichtreiz erneut gereizt, so ist die *Kontraktionsamplitude* im Vergleich zu ihrem Kontrollwert vermindert, und zwar abhängig von der Dauer der vorhergehenden Beleuchtung. Mit zunehmender Dauer der Vorbeleuchtung verringert sich die Kontraktionsamplitude anfänglich (zwischen fünfzehnsekündiger und vierminütiger Vorbeleuchtung) nur langsam; zwischen acht- und zwölfminütiger Vorbeleuchtung verringert sie sich rasch (Abb. 6). Wird die Iris während fünfzehn Sekunden beleuchtet, so erzeugt ein anschliessender kurzer Lichtreiz eine Kontraktion, deren Amplitude gegenüber dem Kontrollwert um 3,9% verringert ist. Zwölf Minuten Vorbeleuchtung bewirken, dass die anschliessende Testkontraktion

um 90,6% gegenüber dem Kontrollwert verringert ist (Tab. 3). Diese starke Abnahme kommt -wie eine Temperaturkontrolle zeigte- nicht etwa durch eine Erwärmung der Ringerlösung zustande.

TABELLE 3

*Einfluss vorgängiger Beleuchtung auf die Lichtreaktion*

Vorbeleuchtung	Hemmung der Kontraktion		Veränderung der $T_{A/2}$ %
	Amplitude %	Geschwindigkeit %	
15 sec	3,9	0	— 10,4
30 sec	14,1	10,0	+ 5,4
60 sec	20,5	3,3	+ 11,5
2 min	22,8	1,3	+ 18,0
4 min	28,6	6,9	+ 35,3
8 min	54,7	30,9	+ 149,8
10 min	55,6	42,6	+ 33,8
12 min	90,6		

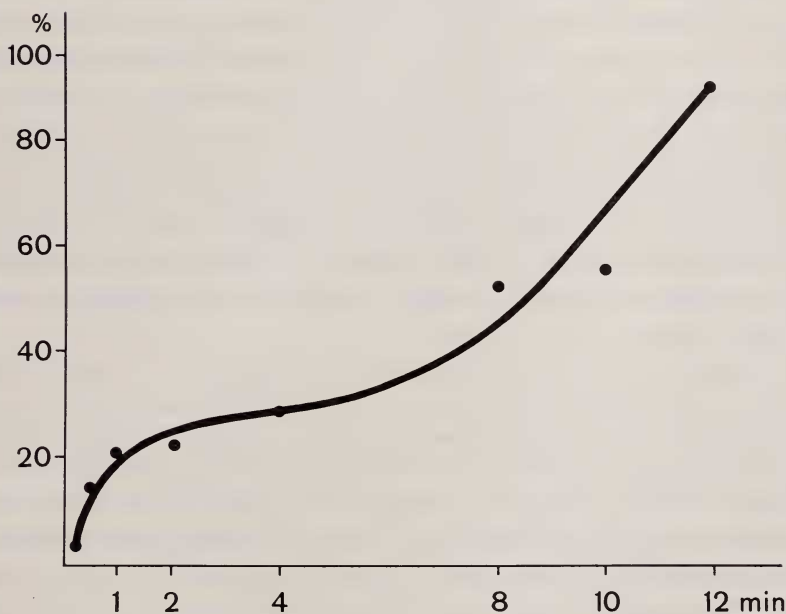


ABB. 6

Hemmung der Kontraktionsamplitude durch vorgängige Beleuchtung.

Die weiteren kurzen Lichtreize erzeugen Iriskontraktionen, deren Amplituden mit jedem Reiz grösser werden. Beim sechsten dieser Reize erreichen die Kontraktionsamplituden wieder ungefähr den Wert, den die Kontrollreaktionen vor

der langdauernden Beleuchtung gezeigt hatten. Ist die Iris zwölf Minuten vorbeleuchtet worden, so nimmt bei den folgenden kurzen Reizen die Kontraktionsamplitude nur geringfügig zu. Der sechste der kurzen Lichtreize erzeugt eine Kontraktionsamplitude, die erst 16% des Kontrollwertes ausmacht.

Die *Kontraktionsgeschwindigkeit* ( $A/t_k$ ) vermindert sich ebenfalls mit zunehmender Vorbeleuchtungsdauer. Die *Relaxation* zeigt bis acht Minuten Vorbeleuchtung eine Zunahme von  $T_{A/2}$ ; nach zehn Minuten jedoch wieder eine Beschleunigung (Tab. 3). Beide Grössen konnten in den Versuchen mit zwölf Minuten Vorbeleuchtung nicht mit genügender Genauigkeit bestimmt werden und sind deshalb in Tabelle 3 nicht angeführt.

### 3. DISKUSSION

Die Versuche zeigen, dass sowohl die Kontraktion als auch die Relaxation des Irmuskels durch die Vorbeleuchtungsdauer beeinflusst werden. Im vorhergehenden Kapitel ist aufgrund des Temperaturverhaltens die Idee entwickelt worden, dass die Kontraktionsamplitude durch einen photochemischen Prozess bestimmt sein könnte. Im Sinne dieser Vorstellung lassen sich auch die eben mitgeteilten Beobachtungen interpretieren: Zunehmende Vorbeleuchtung führt zu wachsender Abschwächung des die Kontraktionsamplitude bestimmenden Primärprozesses. Als Ursache dieser Abschwächung kann z.B. das Ausbleichen eines photolabilen Stoffes angenommen werden. Die Abschwächung kann aber auch durch die Depletion eines Energiedepots im sensorischen Teil des Reflexbogens entstehen. Um diese zwei Möglichkeiten zu unterscheiden, müssten Messungen des  $Q_{10}$  der Kontraktionsabnahme unter variiertter Vorbeleuchtung zur Verfügung stehen. Sie können in dieser Arbeit wegen methodischer Schwierigkeiten jedoch nicht erhoben werden.

Der Fähigkeit der Iris, auf einen Lichtreiz wiederholt zu reagieren, muss ein Resynthesevermögen für die postulierte photolabile Substanz zugrunde liegen. Ein Hinweis auf einen solchen Vorgang ergibt sich aus der Tatsache, dass die durch Vorbeleuchtung verminderte Kontraktionsamplitude bei den folgenden, in zehn Minuten Abstand ausgelösten Lichtreaktionen wieder zunimmt. Im Verlauf einer Stunde kehrt sie auf annähernd den Wert der Kontraktionsamplitude vor der langdauernden Beleuchtung zurück. Lediglich nach zwölf Minuten Vorbeleuchtung vermag die Iris nicht mehr in dieser Art zu reagieren. Offenbar wird bei der gewählten Reizintensität bei zwölfminütiger Reizdauer eine quasi irreversible Erschöpfung erreicht.

Die Kontraktionsgeschwindigkeit zeigt wie die Amplitude eine Hemmung in Abhängigkeit von der Dauer der Vorbeleuchtung. Diese Veränderung steht in merkwürdigem Kontrast zu der in Kapitel I festgestellten Konstanz der Geschwindigkeit. Die Ergebnisse des vorliegenden Kapitels lassen vermuten, dass die

Vorbeleuchtung, sei es durch Ausbleichen, sei es durch Abbau eines Energiedepots, die Erregbarkeit der lichtempfindlichen Strukturen herabsetzt und dass dadurch die Geschwindigkeit der Kontraktion vermindert wird. Wegen der parallelen Abnahme der Amplitude und der Geschwindigkeit bleibt die Kontraktionszeit im untersuchten Bereich annähernd konstant. Auch das scheint zunächst den Ergebnissen des Kapitels I zu widersprechen. Dort hat sich die Kontraktionszeit mit der Amplitude in Abhängigkeit von der Reizgrösse verändert. Bei der vorliegenden Versuchsreihe bleibt der Lichtreiz konstant. Die Aenderung der Amplitude muss auf die Vorbeleuchtung zurückgeführt werden. Daraus scheint zu folgen, dass die Kontraktionszeit nur von der Grösse des Reizes abhängt und dass die Aenderung der Geschwindigkeit die gleichen Ursachen hat wie die Veränderung der Amplitude.

Es ist anzunehmen, dass die resynthetischen Vorgänge nach langdauernder Beleuchtung mit einem grösseren Energiebedarf ablaufen als unter den Bedingungen der unbeeinflussten Kontraktion. Die Stoffwechselprozesse, die damit verknüpft sein mögen, laufen wahrscheinlich während der Relaxation der Iris ab und überlagern sich mit denjenigen, die zur Dilatation der Pupille führen. Durch diese erhöhte Aktivität könnte die Verlängerung der Halbwertszeit nach der Vorbeleuchtung bedingt sein.

Ob die photosensible Substanz in der Froschiris mit dem Rhodopsin identisch ist, kann anhand der hier vorgelegten Befunde nicht diskutiert werden. Alle Autoren, die sich mit diesem Problem an der isolierten Iris beschäftigen, gehen von der Annahme aus, die Grösse der Photosensibilität des Gewebes in einem bestimmten Bereich sichtbaren Lichtes stimme mit dem Absorptionsvermögen des photorezeptiven Stoffes überein. Sie versäumen es, eventuelle Filterwirkungen anderer Pigmente, z.B. des Melanins, zu berücksichtigen. Allerdings scheint für den Aal (MAGNUS 1899) und den Frosch (BARR & ALPERN 1963) eine Aehnlichkeit zwischen den Kurven für die spektrale Empfindlichkeit der Irisreaktion und der Lichtabsorption des Rhodopsins aus der Netzhaut dieser Tiere vorzuliegen, VAN HERK (1928) findet ein Maximum der Lichtreaktion bei Wellenlängen von 500-530 nm. In den Wellenlängenbereich von etwa 550 nm fällt auch das Maximum der Lichtabsorption des Rhodopsins. Dagegen gelangt WEALE (1956) unter Berücksichtigung der Reflexion der Strahlen an den Iridocyten der Irisvorderfläche zu einem anderen Ergebnis: Die Froschiris kontrahiert am stärksten nach Lichtreizen mit Wellenlängen von etwa 420 nm. Nach STEINACHS Untersuchungen (1892) besitzt die isolierte Froschiris im Bereich von 430-480 nm die grösste Lichtempfindlichkeit. Der Autor sieht aufgrund seines Befundes im Melanin eine mögliche photorezeptive Substanz.

Sicherlich muss die Frage nach dem Pigment, das u.U. zur Auslösung der Lichtreaktion führt, von einer anderen, vielleicht von der biochemischen Seite her angegangen werden, um einer Antwort näher zu führen.



#### IV. IONENMILIEU UND LICHTREAKTION

Die bisherigen Untersuchungen erfolgten unter physiologischen Bedingungen, um die Reagibilität des Irisgewebes möglichst normal zu erhalten. Im Folgenden sollte geprüft werden, wie sich Verschiebungen im ionalen Milieu auf die ausgewählten Messgrössen des Pupillenreflexes auswirken. Zwei Bestandteile der Ringerlösung, Calcium und Kalium, wurden systematisch variiert. Die Calciumkonzentration wurde sowohl vermindert als auch vermehrt. Für die Variation des Calciumgehaltes der Ringerlösung sprach die bekannte Verknüpfung dieses Ions mit dem Kontraktions- und dem Relaxationsvorgang und seine Bedeutung für die Membranpermeabilität. Die Erhöhung der Kaliumkonzentration wurde gewählt wegen der depolarisierenden Wirkung, die diese Massnahme auf die Membran hat.

##### 1. VERSUCHSBEDINGUNGEN

Die Iriden der Frösche wurden wie bisher in physiologischer Ringerlösung präpariert und in der durchspülten Kammer aufgehängt. Für die Versuchsserien wurde die Ringerlösung durch Zugabe von Calcium- und Kaliumsalzen verändert.

##### A) Variationen des Calciumgehaltes

a) *Calciumfreie Ringerlösung.* Die Iris war dreissig Minuten in dieser Lösung. Anschliessend wurden in zehnminütigem Abstand Pupillenreaktionen durch Licht verschiedener Intensität ausgelöst (Tab. 4, Abb. 7).

b) Die Iris war fünf Minuten in *calciumfreier Ringerlösung*; alsdann wurden in zehnminütigem Abstand Testreaktionen durch Lichtreize konstanter Grösse ausgelöst (Tab. 5b).

c) Die Iris war dreissig Minuten in *calciumfreier Ringerlösung*. Anschliessend wurden mit konstanter Reizgrösse in zehnminütigem Abstand Lichtreaktionen ausgelöst (Tab. 5c).

TABELLE 4

*Calciumfreie Ringerlösung (Verweildauer : 30 min.)*

Reiz $\frac{\text{Lumen} \times t}{\text{m}^2}$	Amplitude (%) $\bar{x} \pm s$	Kontraktion Zeit (sec)	Geschwindigkeit (%/sec)	Relaxation $T_{1/2}$ (sec)
184	11,1 $\pm$ 6,7	4,2	2,6	16,1
737	20,0 $\pm$ 7,4	5,8	3,4	17,3
2547	23,2 $\pm$ 13,0	6,9	3,4	19,9
3149	43,1 $\pm$ 12,3	6,6	6,5	16,1

d) Nach dreissigminütiger Ruheperiode in Ringerlösung mit *zehnfach erhöhter Calciumkonzentration* wurden in zehnminütigem Abstand die Pupillenreaktionen mit Licht unterschiedlicher Intensität getestet (Tab. 6, Abb. 7).

Die Anzahl der untersuchten Iriden betrug in jeder der vier Versuchsgruppen fünf pro Lichtdosis.

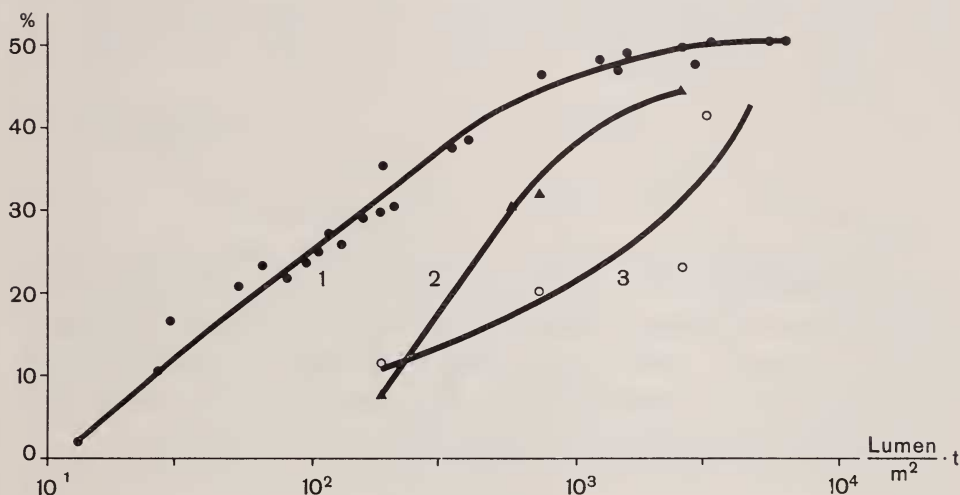


ABB. 7

Abhängigkeit der Kontraktionsamplitude vom Calciumgehalt der Ringerlösung;  
semilogarithmische Darstellung.

1 normale Ringerlösung. 2 Ca.  $\times 10$ -Ringerlösung. 3 Ca-freie Ringerlösung.

TABELLE 5

*Calciumfreie Ringerlösung*

Verweildauer (min)	Kontraktionsamplitude (%)	
	b	c
5	51,6	
15	50,9	
25	49,2	
30		43,1
35	48,3	
40		40,4
45	47,0	
50		38,3
55	45,0	
60		37,1
65	43,1	

TABELLE 6

*Erhöhung der externen Calciumkonzentration*

$\frac{\text{Reiz}}{\text{Lumen} \times t}$ m <sup>2</sup>	Amplitude (%) x ±s	Kontraktion		Relaxation T <sub>A/2</sub> (sec)
		Zeit (sec)	Geschwindigkeit (%/sec)	
184	7,7 ± 3,5	4,2	1,8	14,5
553	30,7 ± 15,0	5,8	5,3	15,6
737	32,2 ± 13,8	6,8	4,7	13,9
2547	45,2 ± 11,4	7,2	6,3	13,7

*B) Variationen des Kaliumgehaltes*

Einer dreissigminütigen Ruhepause in physiologischer Ringerlösung folgten drei Kontrollreaktionen, die mit konstanter Reizdosis ausgelöst wurden. Dem schloss sich eine fünfminütige Ruheperiode in Ringerlösung mit *erhöhtem Kaliumgehalt* an. Alsdann wurden in zehnminütigem Abstand drei Testreaktionen mit konstantem Lichtreiz ausgelöst. Die Kaliumkonzentrationen betrugen 2,7 mM (physiologisch), 13,5 mM und 29,7 mM KCl (Tab. 7, Abb. 8).

Es wurden die Iriden von acht Fröschen getestet.

TABELLE 7

*Erhöhung der externen Kaliumkonzentration (Verweildauer : 35 min.)*

KCl-Konz. mM	Veränderung der			
	Pupillenweite (%)	Kontraktion		Relaxation T <sub>A/2</sub> (%)
		Amplitude (%)	Geschwindigkeit (%)	
13,5	—35,7	—15,5	—17,9	+ 3,0
29,7	—55,7	—33,9	—27,1	+ 5,4

2. ERGEBNISSE

Wird die isolierte Iris nach dreissigminütiger Verweildauer in *calciumfreier Ringerlösung* mit steigenden Lichtmengen gereizt, so nimmt die Kontraktionsamplitude zu (Tab. 4). In Abbildung 7 wird diese Relation zum Vergleich neben der Dosiswirkungskurve der Lichtkontraktionsamplituden in physiologischer Ringerlösung dargestellt. Kontraktionszeit und Kontraktionsgeschwindigkeit nehmen ebenfalls mit der Reizgrösse zu. Die Halbwertszeit der Relaxation bleibt trotz unterschiedlicher Reizdosen gleich gross (Tab. 4).

An der Iris, die nach fünf Minuten in *calciumfreier Ringerlösung* zum ersten Mal gereizt wird, vermindert sich bei den nächsten sechs in zehnminütigem Abstand ausgelösten Lichtreizen die Kontraktionsamplitude nur wenig. Unter gleichen Bedingungen, aber nach dreissig Minuten Ruheaufenthalt, nimmt die Amplitude der folgenden Lichtkontraktionen in stärkerem Masse ab (Tab. 5b und 5c).

In Ringerlösung mit *zehnfach erhöhter Calciumkonzentration* ergeben sich für die vier untersuchten Reizdosen Kontraktionsamplituden, wie sie in Abbil-

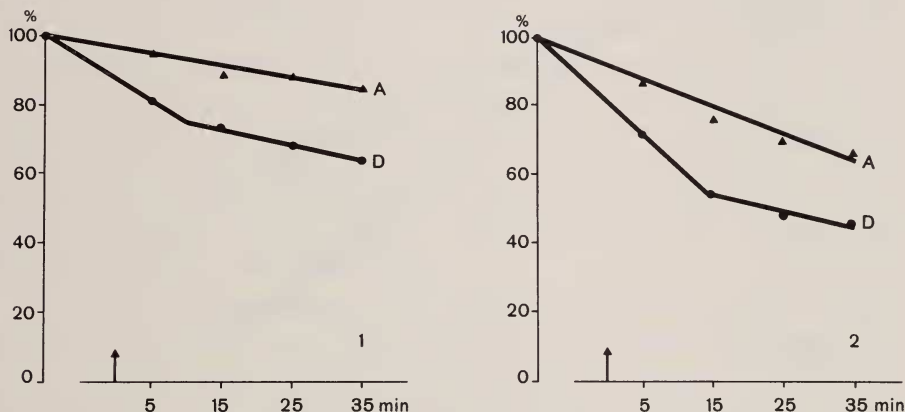


ABB. 8

Abnahme der Kontraktionsamplitude und Pupillenweite in Abhängigkeit von der Verweildauer in kaliumreicher Ringerlösung.

A Kontraktionsamplitude,  
D Pupillenweite,  
1 13,5 mM K,  
2 29,7 mM K.

dung 7 dargestellt sind. Tabelle 6 zeigt die drei Kriterien der Lichtreaktion unter diesen Bedingungen. Kontraktionsamplitude und Anstiegsgeschwindigkeit nehmen besonders mit den niederen Lichtreizen ab, während die Halbwertszeit der Erweiterung in etwa gleichbleibt. Die Verweildauer der Iris in Ringerlösung mit zehnfacher Calciumkonzentration hat keinen Einfluss auf die Reizantwort.

Auf eine *Erhöhung der externen Kaliumkonzentration* reagiert die Iris mit einer Pupillenverengung. Die Testkontraktionen zeigen eine Verminderung der Kontraktionsamplitude und annähernd parallel dazu eine Verminderung der Kontraktionsgeschwindigkeit. Die Halbwertszeit der Relaxation wird praktisch nicht verändert (Tab. 7). Die Verminderung der Reizantworten zieht sich über längere Zeit hin (Abb. 8). Die Verminderung der Pupillenweite, der Kontraktionsamplitude und der Kontraktionsgeschwindigkeit wächst mit der Konzentration des Kaliums im externen Milieu (Abb. 9).

## 3. DISKUSSION

Bei Entzug des Calciums kann an den Membranen von Frostmuskeln eine Abnahme des Ruhepotentials festgestellt werden (PAUSCHINGER et al. 1964). Möglicherweise bedingt diese Depolarisation die verminderte Lichtempfindlichkeit der Froschiris in calciumfreier Ringerlösung. Allerdings sind die Reizantworten

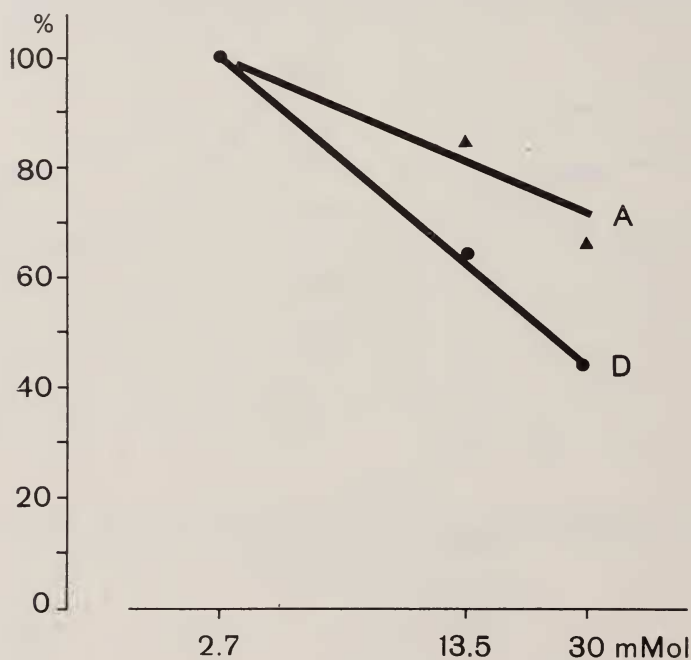


ABB. 9

Einfluss höheren Kaliumgehaltes der Ringerlösung auf Kontraktionsamplitude und Pupillenweite; semilogarithmische Darstellung.

A Kontraktionsamplitude,  
D Pupillenweite.

ten der Iriden in calciumfreier Lösung so stark verringert, dass vielleicht weitere Calcium-Angriffspunkte an der Lichtreaktion zu vermuten sind. So könnte die verminderte Amplitude auch auf mangelnde Kontraktionsfähigkeit der Muskulatur zurückzuführen sein. Intrazellulär verfügbares Calcium vermag die Erregung einer Zellmembran mit der Kontraktion des Actomyosins zu verknüpfen (KLAUS & KUSCHINSKY 1962, KLAUS & LUELLMANN 1964). Dies gilt nicht nur für die Kontraktion der oft untersuchten Skelett- und Herzmuskulatur, sondern auch für die der glatten Muskulatur (BRIGGS & MELVIN 1961, EDMAN & SCHILD 1962,



WAUGH 1962). Die Absenz des Calciums in der Ringerlösung könnte demnach auch an der Froschiris bewirken, dass die Calciumkonzentration im Zellinnern gesenkt wird und dadurch die Irismuskulatur weniger stark kontrahieren kann als unter physiologischen Bedingungen.

Bei Iriden in calciumfreier Lösung nimmt die Kontraktionsamplitude im Laufe einer Stunde mit jedem Reiz ab. Diese Verminderung ist bei Iriden, die erst nach dreissig Minuten Aufenthalt in calciumfreier Lösung zum ersten Mal gereizt werden, stärker als bei denen, die nach fünf Minuten bereits gereizt werden. An der ruhenden Muskulatur scheint demnach der Calciummangel ausgeprägter als an der arbeitenden Muskulatur. Vermutlich werden bei der Kontraktion aus intrazellulären Bindungen Calcium-Ionen freigesetzt, von denen immer wieder Spuren in das calciumfreie, externe Milieu gelangen und den Effekt des Calciummangels an der Kontraktionsamplitude verändern. Calcium-Ionen zu binden und bei der Erregung freizusetzen, vermögen nach HASSELBACH (1963) die Vesicula des endoplasmatischen Reticulums im Zellinnern der Skelettmuskulatur. Histologischen Befunden zufolge existieren solche Strukturen auch in der glatten Muskulatur (MARK 1956, KRAPP 1962).

An Iriden in Ringerlösung mit erhöhter Calciumkonzentration erzeugen gleichgrosse Lichtreize eine weniger grosse Kontraktionsamplitude als an den Iriden in physiologischer Ringerlösung. Eine solche Wirkung der Calcium-Ionen mag durch ihre „membranabdichtenden“ Eigenschaften (BRINK 1954) erklärbar sein: Eine mehr als physiologische, externe Calciumkonzentration setzt die Membranpermeabilität für das Natrium herab; durch den mangelnden Natriumstrom bei einer Erregung würde dann die Reizantwort vermindert.

Die Kurve der in calciumreicher Ringerlösung bei verschiedenen Lichtintensitäten gewonnenen Kontraktionsamplituden läuft der in physiologischer Ringerlösung erzielten nicht parallel. Die Verschiebung ist im niederen Reizbereich stärker ausgeprägt als im höheren. Möglicherweise fällt bei geringen Reizen, deren Grösse sich dem Schwellenwert nähert, die Undurchlässigkeit der Membran als hemmender Faktor der Kontraktion schwerer ins Gewicht als bei höheren.

Wird die isolierte Iris mit kaliumreicher Ringerlösung vorbehandelt, so antwortet sie auf Lichtreize mit einer Kontraktionsamplitude, die in Abhängigkeit von der Kaliumkonzentration vermindert ist. Diese Ergebnisse, die qualitativ mit denen BARRS und ALPERNS (1963) übereinstimmen, scheinen im Widerspruch zu anderen Befunden an glatter Muskulatur zu stehen. Nach BOHR (1964) hat eine teilweise Depolarisation der Membranen durch Kalium eine erhöhte Aktionspotentialfrequenz und eine verstärkte Reizantwort der Muskelzelle zur Folge. Es bleibt unklar, auf welche Art die Kontraktion der depolarisierten Irismuskeln verringert wird. Möglicherweise werden im Ablauf der Lichtreaktion keine Aktionspotentiale ausgebildet, sondern nur lokale Potentiale; vielleicht wird

dadurch der Effekt der Depolarisation an der lichtempfindlichen Iris in das Gegenteil dessen verwandelt, der an anderen glatten Muskeln vorhanden ist. Ein solches elektrophysiologisches Verhalten setzte allerdings eine Rezeptor-Effektor-Beziehung voraus, in der fortgeleitete Erregungen unnötig sind.

Nach den vorgelegten Befunden reagiert die Irismuskulatur auf die depolarisierende KCl-Ringerlösung mit einer Kontraktur: Die Pupillenfläche verringert sich. Diese Kontraktur ist stark, aber nicht vollständig. Die Iris bleibt trotz der hohen extrazellulären Kalium-Konzentration gegenüber Lichtreizen normal empfindlich; sie kontrahiert mit einer Amplitude, die sich von der der Kontrollreaktion ungefähr durch den Wert unterscheidet, den die Kaliumkontraktur ausmacht. Es wäre also denkbar, dass die Kaliumkontraktur der Iris die Verminderung der Lichtkontraktion bedingt.

Die Kontraktionsgeschwindigkeit wird durch die Veränderungen des Ionenmilieus beeinflusst. Iriden in calciumfreier Ringerlösung und in Ringerlösung mit hoher Calciumkonzentration zeigen Kontraktionsgeschwindigkeiten und Kontraktionszeiten, die mit der Intensität des Reizes variieren. Dieser Befund stimmt mit den Ergebnissen des Kapitels I nicht überein. Dort nehmen zwar mit steigenden Lichtreizen Kontraktionszeit und Amplitude zu, die Geschwindigkeit der Kontraktion aber bleibt unverändert. Möglicherweise besteht bei der Kontraktion der Iriden in Ringerlösung mit veränderter Calciumkonzentration ein Zusammenhang zwischen der bei niederen Reizdosen ausgeprägten Verminderung der Amplitude und der Geschwindigkeitsabnahme in diesem Reizbereich. Die Ergebnisse der Kalium-Versuchsreihe, deren Kontraktionen alle mit gleicher Reizgrösse ausgelöst wurden, zeigen, dass die Verminderung der Kontraktionsgeschwindigkeit ungefähr parallel zur Verminderung der Amplitude erfolgt. Die Ursache dieser Verminderung dürfte für beide Reaktionsgrössen die gleiche sein.

Die Ionenvariationen in der Ringerlösung wirken auf das Kontraktionsgeschehen, aber nicht auf die Halbwertszeit der Relaxation. Ein solcher Befund lässt den Schluss zu, dass die veränderten Ionenkonzentrationen in erster Linie das Membranpotential variieren und dadurch die Kontraktion beeinflussen, die Prozesse der Relaxation dagegen von diesen Membranphänomenen unabhängig sind.

Der nächste Teil dieser Arbeit verfolgt den Aspekt der erregbaren Membranen und deren Beteiligung an der Lichtreaktion weiter: Die Pharmaka des vegetativen Systems, deren Wirkungsmechanismus mit Potentialänderungen an den Membranen verknüpft ist, sollen auf ihre Beteiligung an der Lichtreaktion hin untersucht werden.

## V. DIE WIRKUNGEN VEGETATIVER PHARMAKA AN DER ISOLIERTEN FROSCHIRIS

Nach Beobachtungen von MAGNUS (1899) vermag Atropin die Lichtreaktion der isolierten Iris zu verhindern. Er schloss daraus, dass nervöse Elemente am Zustandekommen der Lichtreaktion beteiligt seien. Von da her gesehen scheint es interessant zu untersuchen, ob durch Atropin oder ein anderes Pharmakon des vegetativen Systems die Reizantwort der Iris auf Licht zu beeinflussen ist. Diese Pharmaka wirken einerseits an den Rezeptoren der ruhenden glatten Muskelfaser der nichtbeleuchteten Iris und andererseits an den übrigen Elementen der Lichtreaktion. Wird die pharmakologisch vorbehandelte Iris belichtet, so überlagern sich die Wirkungen der Pharmaka und des Lichtes. Um die erste Pharmakonwirkung vom letztgenannten Effekt zu trennen, wird zuerst die glattemuskuläre Pharmakonwirkung charakterisiert werden.

### 1. VERSUCHSBEDINGUNGEN

Die Pupillengrösse wurde als induzierte Spannung des Photoelements (vgl. Experimentelle Methoden) mit Hilfe eines Oszilloskops sichtbar gemacht und in der Ruhepause des Organs in fünfminütlichem Abstand gemessen. Waren die Werte konstant, so wurde die Kammer statt von der reinen Ringerlösung fünf Minuten lang von der Pharmakonlösung durchströmt. Die Veränderung, die die jeweilige Substanz an der Pupille erzeugte, liess sich am Oszilloskop in minütlichem Abstand messen. Sie wurde in Prozent der vorherigen Pupillenweite ausgedrückt. Nach Ablauf dieser fünfminütigen Periode folgte das Spülen mit reiner Ringerlösung. Die Pupille kehrte dann innerhalb weniger Minuten (gelegentlich erstreckte sich diese Erholungsphase auch über einen Zeitraum von fünfzehn bis zwanzig Minuten) zu ihrem Ausgangswert zurück. Wenn die Iris in dieser Art reagierte, wurde nach dreissig Minuten die Applikation des Pharmakons wiederholt.

Sollte die gegenseitige Beeinflussung zweier Pharmaka (Agonist und Antagonist) untersucht werden, dann änderte sich die geschilderte Methodik um Weniges. Zuerst wurde die agonistisch wirkende Substanz dreimal appliziert. Die Abstände zwischen den pharmakologischen Tests betrugen dreissig Minuten. Diese Reaktionen wurden als Kontrollwerte betrachtet. Waren die drei Reaktionen der Iris von gleicher Grösse, wurde nach weiteren 25 Minuten die antagonistisch wirksame Substanz zugesetzt. Fünf Minuten später folgte aufs neue die Durchströmung mit dem agonistisch wirkenden Stoff. Sein nun verminderter Effekt wurde in Prozent des Kontrollwertes ausgedrückt. In dreissigminütigem Abstand wurde der Agonist weiterhin appliziert.

Untersucht wurden Acetylcholin (als Chlorid) sowie die Katecholamine Adrenalin (als Chlorhydrat), Noradrenalin (als Bitartrat) und Isoproterenol (als Sulfat), dazu Serotonin und Melatonin. Von den antagonistisch wirksamen Stoffen wurden gewählt: Atropin (als Sulfat), Dibenzylin, Dichlorisoproterenol (=DCI) und Inderal. Die verwendeten Konzentrationen lagen zwischen  $10^{-9}$  und  $10^{-4}$  g/ml. Es wurde jeweils mit steigenden Konzentrationen gearbeitet. Alle Substanzen wurden in Ringer für Kaltblüter gelöst.

Die letzte Versuchsreihe beschäftigte sich mit der quantitativen Charakterisierung des Antagonismus von Adrenalin und DCI. Zunächst wurde der Antagonismus des DCI gegenüber Adrenalin geprüft. War dieser Effekt stabil, so wurde die Adrenalin-Konzentration nach jedem zweiten Test, d.h. nach jeder Stunde, erhöht.

Für jede Pharmakondosis wurden die Iriden von zwei oder drei Tieren getestet.

## 2. CHOLINERGE REZEPTOREN

### A) Ergebnisse

Acetylcholin bewirkt an der isolierten Froschiris eine mässige Verkleinerung der Pupillenfläche. Im Konzentrationsbereich von  $10^{-9}$  g/ml bis  $10^{-4}$  g/ml Acetylcholin steigt dieser miotische Effekt dosisabhängig (Tab. 8). Die maximale Acetylcholinwirkung an der isolierten Froschiris wird nach einer Minute erreicht.

TABELLE 8

*Kontraktion der Pupille (%)*

Ach. g/ml	$\bar{x}$	$\pm s$	(n)
$10^{-9}$	4,8	$\pm 2,4$	(5)
$10^{-8}$	10,7	$\pm 4,0$	(9)
$10^{-7}$	9,6	$\pm 1,0$	(9)
$10^{-6}$	12,6	$\pm 1,9$	(10)
$10^{-5}$	15,1	$\pm 1,6$	(9)
$10^{-4}$	28,3	$\pm 7,3$	(10)

Die Wirkung, die  $10^{-4}$  g/ml Acetylcholin im Verlauf der ersten Minute an der Froschiris erzeugt, lässt sich durch  $10^{-7}$  g/ml Atropin zu 63% hemmen, durch  $10^{-6}$  g/ml Atropin zu 100%.

Während die Acetylcholincontraktion der ersten Minute durch Atropin weitgehend oder vollständig antagonisiert wird, entsteht in der vierten Minute der Acetylcholincinwirkung an der atropinisierten Iris eine zweite Kontraktion.



Unter dem Einfluss von  $10^{-7}$  g/ml Atropin beträgt diese „Zweitkontraktion“ 45% der ursprünglichen Acetylcholincontraktion, bei  $10^{-6}$  und  $10^{-5}$  g/ml Atropin 72,6% und 68,9%. Wirkt auf die atropinisierte Iris nach dreissig Minuten aufs neue Acetylcholin ein, so tritt die „Zweitkontraktion“ nicht wieder auf.

An den atropinisierten Iriden nehmen bei Acetylcholintests in halbstündigen Abständen die Kontraktionen wieder zu.

Atropin zeigt neben seinem hemmenden Effekt an der Acetylcholincontraktion eine schwache Eigenwirkung an der Pupille:  $10^{-7}$  g/ml Atropin erweitern die Pupille um 6,5%,  $10^{-6}$  g/ml um 15,9% und  $10^{-5}$  g/ml um 20,8%.

### *B) Diskussion*

Acetylcholin bewirkt an der isolierten Iris des Frosches eine Verkleinerung der Pupillenfläche. Dieser Befund stimmt mit Ergebnissen überein, die HADJIMICHALIS (1931) und ARMSTRONG (1942) an den extirpierten Augen verschiedener Amphibienarten (*Rana exculenta*, *Amblystoma notatum*, *Amblystoma opacum*) gewonnen haben. In der neueren Literatur finden sich eine Reihe von Angaben, die sich auf die kontrahierende Wirkung des Acetylcholins an der Warmblüteriris beziehen. Der isolierte m. sphincter pupillae reagiert auf Acetylcholin mit einer Kontraktion (HESS 1949, RUEGG & HESS 1953, SCHAEPPI & KOELLA 1964a). Nach SCHAEPPI und KOELLA (1964c) wirkt das Acetylcholin auch auf den m. dilatator pupillae, welcher den Antagonisten zum m. sphincter pupillae darstellt. Eine Verengung der Pupille infolge einer Acetylcholinapplikation würde nach SCHAEPPIS und KOELLAS Befunden mit der Resultante der Kontraktionen beider Irismuskeln identisch sein. Da die Froschiris sehr leicht zerreißt, konnten ihre beiden Muskeln nicht getrennt werden. Es kann daher in dieser Arbeit nicht entschieden werden, ob auch beim Frosch beide Irismuskeln durch Acetylcholin ansprechbar sind. Dennoch kann aufgrund der vorgelegten Ergebnisse eine Uebereinstimmung des cholinergen Systems von Frosch- und Säugeriris festgestellt werden.

Die merkwürdige „Zweitkontraktion“ ist von relativ geringer Stärke und schwierig zu erfassen, weil sie nur bei der ersten Acetylcholinapplikation der atropinisierten Iris auftritt; sie wurde deshalb nicht näher untersucht.

## 3. ADRENERGE REZEPTOREN

### *A) Ergebnisse*

Auf die drei verwendeten Katecholamine antwortet die isolierte Froschiris gleichsinnig mit einer konzentrationsabhängigen Dilatation der Pupille. Diese Reaktion erfordert bei einer Katecholaminkonzentration von  $10^{-8}$  g/ml zwei Minuten bis zur vollen Entfaltung, bei höheren Konzentrationen nicht mehr als

drei Minuten. Die Resultate sind in Tabelle 9 zusammengestellt. Adrenalin erweist sich als das wirksamste der drei Pharmaka. Noradrenalin ist ihm nur wenig unterlegen. Isoproterenol ist das an der isolierten Froschiris am wenigsten wirksame Katecholamin.

TABELLE 9  
*Erweiterung der Pupille (%)*

Konzentration g/ml	Adrenalin $\bar{x} \pm s$	Noradrenalin $\bar{x} \pm s$	Isoproterenol $\bar{x} \pm s$
$10^{-9}$	2,7 $\pm$ 1,9	6,6 $\pm$ 2,0	
$10^{-8}$	13,1 $\pm$ 2,5	9,4 $\pm$ 2,6	8,7 $\pm$ 2,8
$3 \times 10^{-8}$	13,5 $\pm$ 1,9		
$10^{-7}$	18,3 $\pm$ 4,0	15,5 $\pm$ 1,2	12,1 $\pm$ 2,3
$3 \times 10^{-7}$	22,8 $\pm$ 7,7	21,6 $\pm$ 2,6	15,7 $\pm$ 3,1
$10^{-6}$	28,6 $\pm$ 8,2	24,9 $\pm$ 1,4	20,0 $\pm$ 4,9
$3 \times 10^{-6}$		34,0 $\pm$ 2,2	21,2 $\pm$ 2,5
$10^{-5}$		56,8 $\pm$ 12,8	

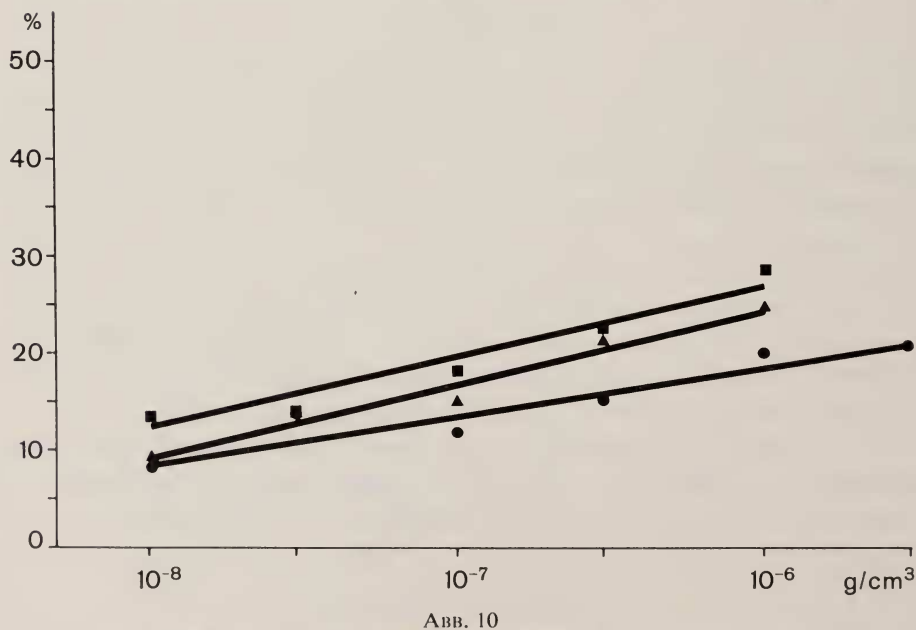


ABB. 10  
Dilatation der Pupille durch Katecholamine; semilogarithmische Darstellung.

■ Adrenalin, ▲ Noradrenalin, ● Isoproterenol.

Die Ergebnisse der Hemmversuche mit den drei verwendeten Antagonisten Dibenzylin, DCI und Inderal sind in Tabelle 10 aufgeführt. Dibenzylin hemmt am stärksten die durch Noradrenalin erzeugte Dilatation der Pupille; es ist auch



gegenüber Adrenalin von beträchtlicher Wirkung. Gegenüber Isoproterenol zeigt Dibenzylin keinen Antagonismus. DCI hemmt die durch Adrenalin und Isoproterenol erzeugte Dilatation der Pupille beträchtlich; es zeigt keine antagonistische Wirkung gegenüber Noradrenalin. Inderal, das nur als Antagonist des Isoproterenols getestet wurde, erweist sich in diesem Falle als starker Blocker. Die

TABELLE 10

*Hemmung der durch Katecholamine erzeugten Mydriase (%)*  
*Konzentration der Agonisten  $10^{-7}$  g/ml*

Konzentration Antagonist g/ml	Nor.	Dibenzylin Adr.	Iso.	Nor.	DCI Adr.	Iso.	Inderal Iso.
$10^{-9}$	45,9						
$10^{-8}$	41,9						
$10^{-7}$	71,7						15,0
$3 \times 10^{-7}$	77,2	56,4	0		33,1	20,2	
$10^{-6}$	85,4		8,8	3,0	41,1	44,1	40,8
$3 \times 10^{-6}$					55,5	43,2	57,2
$10^{-5}$					78,3	76,8	58,6

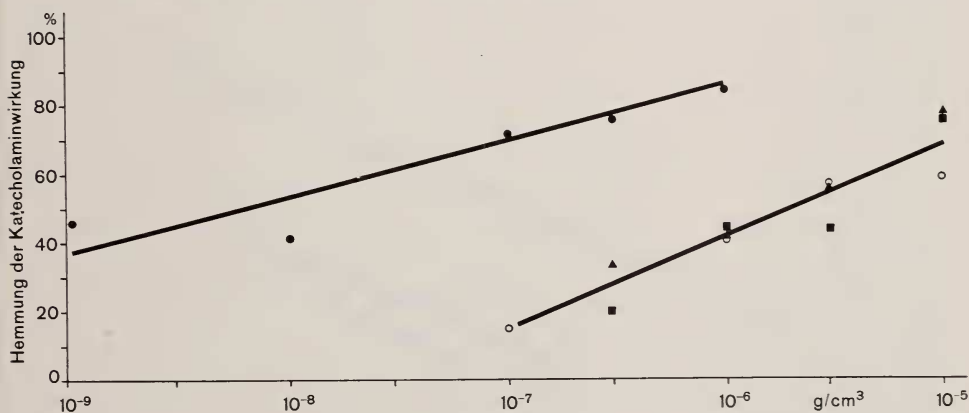


ABB. 11

Hemmung der Katecholaminwirkung; semilogarithmische Darstellung.

○ Inderal/Isoproterenol,

▲ DCI/Adrenalin,

■ DCI/Isoproterenol,

● Dibenzylin/Noradrenalin.

nach dem Probitverfahren bestimmten  $ED_{50}$  haben folgende Werte: Dibenzylin  $5,2 \times 10^{-8}$  g/ml gegenüber Noradrenalin; DCI  $5,8 \times 10^{-6}$  g/ml gegenüber Adrenalin, DCI  $4,2 \times 10^{-6}$  g/ml gegenüber Isoproterenol und Inderal  $3,2 \times 10^{-6}$  g/ml gegenüber Isoproterenol. Die Ergebnisse der Hemmversuche sind in Abbildung 11 dargestellt.

In Tabelle 11 sind die Werte der letzten Versuchsgruppe zusammengestellt. Die Zahlen zeigen, dass höhere Adrenalinkonzentrationen den antagonistischen Effekt des DCI zurückdrängen. Die semilogarithmischen Dosiswirkungskurven des Adrenalins bei drei Konzentrationen DCI ( $0$ ,  $3 \times 10^{-7}$  und  $3 \times 10^{-6}$  g/ml) ergeben drei annähernd parallel steigende Geraden (Abb. 12).

TABELLE 11

*Antagonismus des Adrenalin/DCI  
Dilatation der Pupille (%)*

Adrenalin g/ml	DCI = 0	DCI $3 \times 10^{-7}$ g/ml	DCI $3 \times 10^{-6}$ g/ml
$3 \times 10^{-8}$	13,5		
$10^{-7}$	18,3	12,7	9,4
$2 \times 10^{-7}$			9,9
$3 \times 10^{-7}$	22,8	14,4	13,9
$5 \times 10^{-7}$		17,0	16,1
$10^{-6}$	28,6		

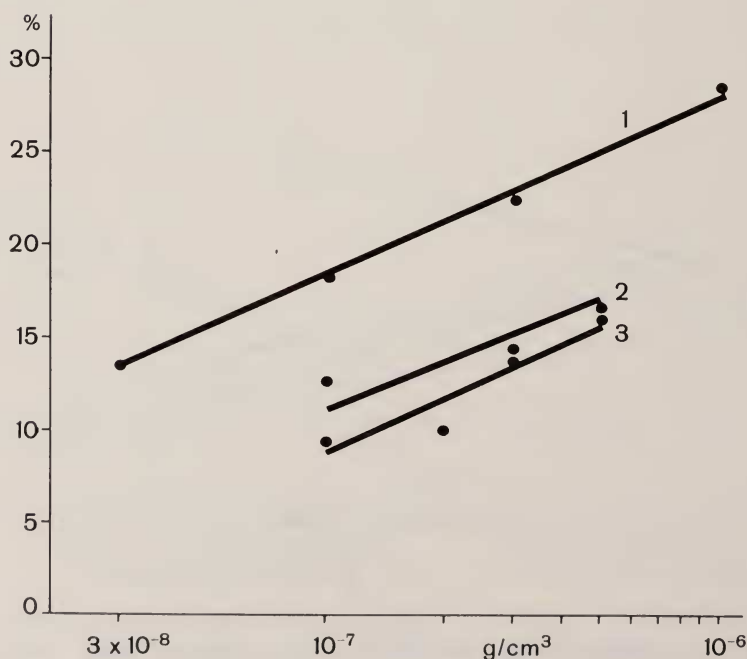


ABB. 12

Antagonismus des DCI/Adrenalin, Dilatation der Pupille.

- 1 ohne DCI,
- 2 DCI  $3 \times 10^{-7}$  gml $^{-1}$ ,
- 3 DCI  $3 \times 10^{-6}$  gml $^{-1}$ .

*B) Diskussion*

Die drei verwendeten Katecholamine wirken -wie ihre Dosiswirkungskurven zeigen- an der Froschiris mit unterschiedlicher Aktivität. Darin mag ein Hinweis auf die Stimulation verschiedener adrenerger Rezeptorstrukturen in der Iris durch diese Pharmaka liegen. Mit Hilfe spezifischer Blocker gelingt eine Differenzierung zweier adrenerger Rezeptortypen in der Froschiris. Dibenzylin als  $\alpha$ -Rezeptorenblocker (FURCHGOTT 1954) hemmt an der isolierten Froschiris die Noradrenalin-Mydriase beträchtlich, die des Adrenalins weniger stark und die des Isoproterenols gar nicht. In erster Linie muss also das Noradrenalin über die  $\alpha$ -Rezeptoren der Froschiris wirken; das Adrenalin ist über die  $\alpha$ -Rezeptoren geringer wirksam. Durch den  $\beta$ -Rezeptorenblocker DCI (POWELL & SLATER 1958) lässt sich die Adrenalin- und Isoproterenol-Mydriase hemmen, die Noradrenalinwirkung wird nicht antagonisiert. Die Froschiris besitzt demzufolge  $\beta$ -Rezeptoren, die sich durch Adrenalin und Isoproterenol stimulieren lassen. Für das Vorhandensein rezeptorischer Strukturen dieser Art spricht auch der Befund, dass sich die Isoproterenol-Mydriase durch den  $\beta$ -Rezeptorenblocker Inderal (BLACK et al. 1964) hemmen lässt. Demnach scheint das adrenerge System der Froschiris demjenigen von Warmblüteririden (SCHAEPI & KOELLA 1964b & c, FREUNDT 1964 und 1965) vergleichbar zu sein. Sicherlich spielt das Adrenalin, das in Froschorganen in höherer Konzentration als Noradrenalin gefunden worden ist (AZUMA et al. 1965), eine Rolle als Stimulans beider adrenerger Rezeptoren. Am Myocard des Frosches ist der Nachweis von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Rezeptoren gelungen (ERLIJ et al. 1965). Die in dieser Arbeit untersuchte Iris ist somit ein weiteres Organ des Frosches, an dem eine Differenzierung von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Rezeptoren gelingt.

Diese Rezeptor-Strukturen sind allerdings auf die beiden antagonistisch wirkenden Irismuskeln verteilt. Arbeiten der HESS-Schule (KOELLA und Mitarbeiter 1952) weisen auf die Komplexität der Innervierungsverhältnisse in den Iriden von Warmblütern hin. Nach SCHAEPI und KOELLA (1964c & b) haben Noradrenalin und Isoproterenol Angriffspunkte an beiden antagonistisch wirkenden Muskeln. Es ist zu vermuten, dass auch die Froschiris eine ähnliche Verteilung der Rezeptorstrukturen aufweist. Die Pupillenänderung infolge der Katecholamineinwirkung, wie sie in der vorliegenden Arbeit beobachtet wird, dürfte deshalb die Resultante aus den Kontraktionen beider Muskeln darstellen.

Nach CLARK (1937) ist die Effektivität eines Agonisten in erster Linie dem Prozentsatz besetzter Rezeptoren proportional, das heisst nach seiner Theorie der „Affinität“ eines Stoffes zu einem Substrat. Die Affinität ist durch die Dissoziationskonstante der Reaktion zwischen Agonist und Rezeptor hinreichend gekennzeichnet. ARIENS (1954) und ARIENS und Mitarbeiter (1957) stellen diesem Affinitätsbegriff den der „intrinsic activity“ zur Seite. Damit erfassen sie die über das Mass der Affinität hinausgehende, spezifische Aktivität, die von einem Pharmakon-

Rezeptor-Komplex ausgehen kann. In der intrinsic activity spiegelt sich die Wirksamkeit des applizierten Stoffes wider. Konkurrieren zwei Pharmaka um die freien Rezeptorstrukturen, so kompliziert sich das Verhältnis zunächst. Beide haben eine bestimmte Affinität, beide eine eigene intrinsic activity. Für den Spezialfall der kompetitiven Hemmung, setzt ARIENS voraus, sind die Affinitäten der Stoffe A und B gleich gross. Die intrinsic activity des Pharmakons B ist gleich Null, die des Stoffes A grösser als Null. Der Antagonist B blockiert zwar das Rezeptorsystem, da er eine Affinität zu ihm besitzt; wegen seiner intrinsic activity, die Null ist, vermag er aber nicht verwandelt zu werden, sodass ein Verschieben der Gleichgewichtslage am Rezeptor leicht denkbar wird. Wird der Effekt verschiedener Dosen des Agonisten A bei gleichzeitiger Anwesenheit einer bestimmten Konzentration des Antagonisten B graphisch dargestellt und dieses Vorgehen für verschiedene Antagonistenkonzentrationen wiederholt, so ergibt sich nach ARIENS (1954) eine parallele Verschiebung der Kurvenbilder. Ein solches Verhalten ist nach ARIENS ein praktisch ausreichendes Indiz für den Fall eines kompetitiven Antagonismus. Für die dilatierende Wirkung des Antagonist-Agonistenpaares DCI/Adrenalin an der Froschiris in vitro zeigt die Abbildung 12 einen nahezu parallelen Verlauf dreier Kurven für drei verschiedene Dosierungen DCI bei steigender Konzentration von Adrenalin. Den Ueberlegungen ARIENS' folgend, kann auf einen kompetitiven Antagonismus des Paares DCI/Adrenalin geschlossen werden.

### *C) Serotonin und Melatonin*

Das Serotonin steht fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen zufolge in Beziehung zum adrenergen System der Iris (MALMFORS 1965). Die Wirkungen, die Serotonin und das ihm verwandte Melatonin an der Froschiris haben, sollen deshalb im Anschluss an die Effekte der Katecholamine dargestellt werden.

$10^{-6}$  g/ml Serotonin erzeugen eine Pupillendilatation von 15,7%. Melatonin hat in Konzentrationen von  $10^{-9}$  bis  $10^{-6}$  g/ml eine Pupillendilatation von 11,6 bis 16,6% zur Folge.

Diese Ergebnisse an der Froschiris stehen im Gegensatz zu denen KOELLAS und SCHAEPPIS (1962), nach denen Serotonin an der Katzeniris in vitro einen miotischen Effekt entfaltet. Ein Grund für diese differierenden Befunde könnte in einer unterschiedlichen Verteilung der serotoninempfindlichen Strukturen auf die beiden Irismuskeln in Katzen- und Froschiris liegen. Auch weisen Untersuchungen über die Aktivität der Hydroxy-indol-o-methyl-transferase (als Mass für den Melatoningehalt) daraufhin, dass Melatonin in den Retinae höherer Wirbeltiere in geringerer Konzentration vorliegt als in den Retinae niederer Wirbeltiere (QUAY 1965 a & b). Da Retina und Iris ontogenetisch aus dem gleichen Material entstehen (MAGITOT 1921), mag die Verteilung melatonin- (oder serotonin-) empfindlicher Strukturen in Iris und Retina ähnlich sein. In dieser unterschied-

lichen Melatoninempfindlichkeit niederer und höherer Vertebraten könnte ebenfalls eine Ursache für die differierenden Serotonin-Effekte an den Iriden verschieden evoluerter Wirbeltiere liegen. Wegen ihrer relativ geringen Wirkungen an der Froschiris wurden Serotonin und Melatonin nicht näher untersucht.

## VI. PHARMAKA UND LICHTREAKTION

Nachdem die Pharmaka-Wirkungen an der unbelichteten Iris dargestellt worden sind, soll nun der Einfluss dieser Pharmaka auf die Lichtreaktion untersucht werden.

### 1. VERSUCHSBEDINGUNGEN

Drei Lichtkontraktionen wurden in zehnminütigem Abstand an der unbeeinflussten Iris ausgelöst und als Kontrollen bewertet. Fünf Minuten vor dem nächsten Lichtreiz wurde eine bestimmte Konzentration eines Pharmakons appliziert und nach dieser Frist mit gleich grosser Lichtmenge wie zuvor ein neuer Reiz gesetzt. Die Differenz zwischen der unbeeinflussten und der durch das Pharmakon beeinflussten Lichtreaktion wurde in Prozent des Kontrollwertes ausgedrückt. Nachdem die Lichtreaktion unter Einfluss des Pharmakons abgelaufen war, wurde die Pharmakon- wieder gegen die reine Ringerlösung ausgetauscht. In zehn Minuten Abstand wurden weiterhin Lichtreize gleicher Grösse wie zuvor appliziert.

Untersucht wurden: Atropin, Dibenzylin, DCI, Inderal, Acetylcholin, Adrenalin, Noradrenalin, Isoproterenol, Serotonin und Melatonin. Gelöst wurden alle diese Pharmaka in Ringerlösung. Adrenalin, Noradrenalin und Isoproterenol wurden pro Konzentration an den Organen je dreier Tiere getestet. Für die eben genannten anderen Stoffe wurde pro Dosis nur je eine Iris untersucht.

Fünf Frösche erhielten während acht Tagen drei Gaben von je 1 mg/kg Reserpin in den dorsalen Lymphsack. Nach dieser Frist wurden die Tiere getötet und ihre Iriden *in vitro* getestet. Die Iriden wurden zuerst mit Licht gereizt, sodann mit Isoproterenol  $10^{-7}$  g/ml behandelt und aufs neue gleichgrossen Lichtreizen wie zuvor ausgesetzt.

An den Iriden von fünf Fröschen wurde die Wirkung, die Isoproterenol  $10^{-7}$  g/ml auf die Lichtreaktion hat, bei zwei um  $10^{\circ}\text{C}$  unterschiedlichen Temperaturen untersucht und der  $Q_{10}$ -Wert berechnet. Das Prozedere war dem in Kapitel II geschilderten analog.

Um die Wirkungen, die die Katecholamine auf die Lichtreaktion haben, zu antagonisieren, wurden folgende Agonisten-Antagonistenpaare gewählt: Adrenalin-Dibenzylin, Adrenalin-Inderal, Isoproterenol-DCI, Isoproterenol-Inderal. Die Iris wurde zunächst mit konstanter Lichtmenge in zehnminütigem Abstand



gereizt. Nachdem drei dieser Kontrollreaktionen abgelaufen waren, wurde der Antagonist appliziert, fünf Minuten später der Agonist. Nach weiteren fünf Minuten wurde eine Lichtreaktion mit gleich grossem Reiz wie bei den Kontrollreaktionen ausgelöst. Pro Dosis kamen die Organe von drei Fröschen zur Untersuchung. Des weiteren wurde die Gesetzmässigkeit untersucht, der der Antagonismus Isoproterenol/Inderal folgt. Verfahren wurde dabei gleich wie in der eben erwähnten Versuchsgruppe. Es wurden drei verschiedene Dosierungen Inderal gewählt: 0,  $10^{-6}$  und  $10^{-5}$  g/ml. Die Isoproterenoldosen wurden im Bereich von  $10^{-9}$  bis  $10^{-5}$  g/ml variiert.

## 2. ERGEBNISSE

Unter dem Einfluss von Atropin, Dibenzylin, DCI, Inderal, Acetylcholin, Melatonin, und Serotonin verändert sich die Amplitude der Lichtreaktion nicht (Tab. 12), obwohl diese Pharmaka des *vegetativen Systems* eine Wirkung an der nicht beleuchteten Irsimuskulatur entfalten.

TABELLE 12

*Einfluss von Pharmaka auf die Lichtkontraktion*

Pharmakon	g/ml	Änderung der Kontraktionsamplitude (%)
Atropin . . .	$10^{-5}$	+ 2,0
	$10^{-4}$	— 8,4
	$10^{-3}$	— 2,9
	$10^{-2}$	— 27,9
Dibenzylin . .	$10^{-5}$	+ 1,8
		— 5,2
DCI . . . .	$10^{-5}$	— 2,4
		+ 7,8
Inderal . . .	$10^{-5}$	— 1,1
		+ 2,2
Acetylcholin .	$10^{-4}$	— 9,6
		— 2,4
		+ 0,8
		— 6,0
Melatonin . .	$10^{-9}$	+ 1,8
	$10^{-8}$	+ 17,9
	$10^{-7}$	+ 4,4
	$10^{-6}$	— 4,6
Serotonin . .		— 7,2
	$10^{-6}$	0

Die *Katecholamine* (Adrenalin, Noradrenalin und Isoproterenol) wirken ebenfalls an der nicht beleuchteten Iris, die während ihrer Einwirkung ausgelöste Lichtreaktion fällt geringer aus als die Kontrolle an demselben Organ. Wie



Abbildung 13 zeigt, ist die Hemmung der Kontraktionsamplitude konzentrationsabhängig. Isoproterenol ist am wirksamsten, ihm folgt das Adrenalin. Noradrenalin wirkt erst bei  $10^{-5}$  g/ml deutlich. Für die Isoproterenolwirkung sind die Werte der drei zur Charakterisierung der Lichtreaktion verwendeten Kriterien in Tabelle 13 zusammengestellt. Die Kontraktionsamplitude verringert sich mit

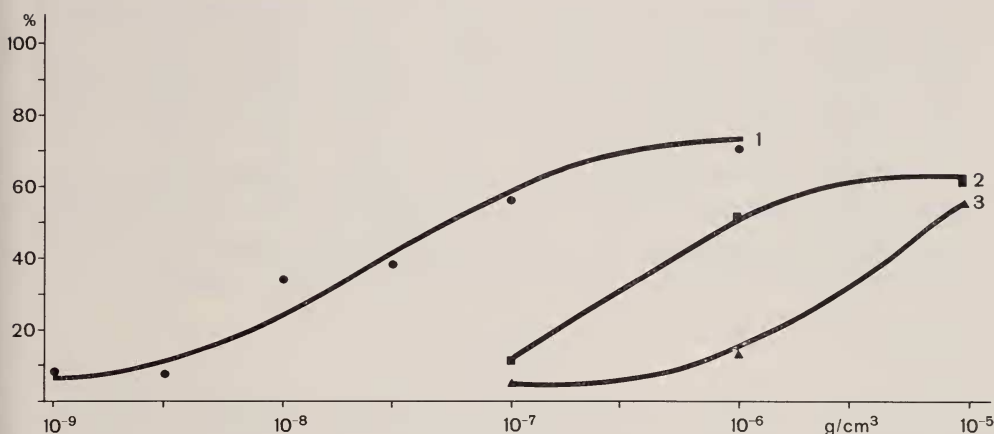


ABB. 13

Hemmung der Kontraktionsamplitude durch Katecholamine; semilogarithmische Darstellung.

1 Isoproterenol, 2 Adrenalin, 3 Noradrenalin.

TABELLE 13

*Einfluss des Isoproterenols auf die Lichtkontraktion*

Isoproterenol g/ml	Veränderung der		
	Kontraktion Amplitude (%)	Geschwindigkeit (%)	Relaxation $T_{A/2}$ (%)
$10^{-9}$	- 7,8	+ 10,0	- 17,8
$3 \times 10^{-9}$	- 7,3	+ 5,5	- 22,0
$10^{-8}$	- 34,2	- 17,9	- 19,4
$3 \times 10^{-8}$	- 37,6	+ 32,7	- 26,5
$10^{-7}$	- 56,8	- 28,3	- 18,0
$10^{-6}$	- 70,6	- 47,6	- 3,9

steigender Konzentration des Isoproterenols; ebenso vermindert sich die Anstiegsgeschwindigkeit, allerdings nicht mit gleicher Stärke. Die Halbwertszeit der Relaxation ist gegenüber den Kontrollwerten konzentrationsunabhängig verringert, d.h. der Erholungsprozess verläuft schneller. Nach dem Austausch der Pharmakonlösung gegen die reine Ringerlösung nehmen bei den weiteren Licht-

kontraktionen die Amplituden langsam wieder zu. Fünfzig Minuten später haben sie ungefähr die Werte, die sie vor der Pharmakoneinwirkung gezeigt haben, wieder erreicht.

An den isolierten Iriden *reserpinierter Tiere* verläuft die Lichtreaktion in gleicher Art wie an unbeeinflussten Iriden. Werden die Iriden reserpinierter Tiere in vitro mit Isoproterenol behandelt, so wird die Lichtreaktion in gleichem Masse gehemmt wie an den unbeeinflussten Organen. Von den fünf untersuchten Iriden der Frösche, die Reserpin erhalten hatten, reagierten zwei auf Isoproterenol  $10^{-7}$  g/ml mit einer Dilatation von etwa 10%, die drei anderen Iriden mit Dilatationen von 35, 60 und 79% (Tab. 14).

Wird der Isoproterenoleinfluss ( $10^{-7}$  g/ml) auf die Lichtreaktion bei *unterschiedlichen Temperaturen* untersucht, so ergeben sich  $Q_{10}$  - Werte von 1,1 für die Kontraktionsamplitude, von 1,2 für die Kontraktionszeit und von 1,1 für die Halbwertszeit der Relaxation. Einzelwerte sind in Tabelle 15 angeführt.

TABELLE 15

$Q_{10}$ -Werte der durch  $10^{-7}$  g/ml Isoproterenol beeinflussten Lichtreaktion. Temperatur  $23^{\circ} C \rightarrow 13^{\circ} C$

	Kontraktions- amplitude	Kontraktions- zeit	Relaxation $T A/2$
	0,927	1,360	0,847
	1,214	1,474	1,205
	1,042	1,364	1,446
	1,189	0,789	0,830
	1,190	1,000	1,034
$\bar{x}$	1,112	1,197	1,072

Die Wirkungen des Adrenalins und Isoproterenols an der Kontraktionsamplitude werden durch die *spezifischen Blocker* antagonisiert. Die etwa fünfzigprozentige Hemmung der Kontraktionsamplitude durch Adrenalin  $10^{-6}$  g/ml wird durch Dibenzylin  $10^{-5}$  g/ml geringfügig, durch Inderal  $10^{-5}$  g/ml vollständig aufgehoben. Die sechzigprozentige Hemmung der Kontraktionsamplitude durch Isoproterenol  $10^{-7}$  g/ml wird durch DCI wenig, durch Inderal stärker rückgängig gemacht (Abb. 14). Inderal vermag die durch Isoproterenol bewirkte Hemmung der Lichtkontraktionsamplitude wieder aufzuheben. Wird jedoch die Konzentration des Isoproterenols erhöht, so wird die Lichtkontraktionsamplitude wieder stärker gehemmt. Diese zunehmende Verminderung der Kontraktionsamplitude

TABELLE 14

*Frösche chronisch reserpiniert*  
*(während 8 Tagen  $3 \times 1 \text{ mg/kg}$  Reserpin in den dorsalen Lymphsack)*

Unbeeinflusste Lichtreaktion			
	Kontraktion		Relaxation $T_{A/2}$ (sec)
	Amplitude (%)	Geschwindigkeit (%/sec)	
$\bar{x}^*$	67,2	11,7	10,4
	50,6	9,5	16,1
	59,7	9,0	12,4
	(38,5)	(6,6)	(14,6)
	(32,0)	(5,7)	(12,3)
Kontrolle (Tab. 1 Nr. 22)	59,2	10,1	13,0
	50,8		
Iris mit $10^{-7}$ g/ml Isoproterenol vorbehandelt			
	Veränderung der		Relaxation $T_{A/2}$ (%)
	Kontraktion Amplitude (%)	Geschwindigkeit (%)	
$\bar{x}^*$	-56,6	-13,0	+ 7,9
	-69,5	-29,5	-41,5
	-52,6	-24,3	+ 14,3
	(-85,5)	(-63,6)	(-48,8)
	(-68,7)	(-53,5)	(-23,9)
Kontrolle (Tab. 13)	-59,6	-22,3	- 6,4
	-56,8	-28,3	-18,0
Dilatation der Pupille durch $10^{-7}$ g/ml Isoproterenol (%)			
79,3			
59,8			
35,2			
(9,8)			
(13,0)			

\*  $\bar{x}$  bezieht sich auf die drei ersten Werte jeder Kolonne; aufgrund der erhöhten Sensibilität gegenüber Isoproterenol werden nur diese Iriden als reserpiniert angesehen.

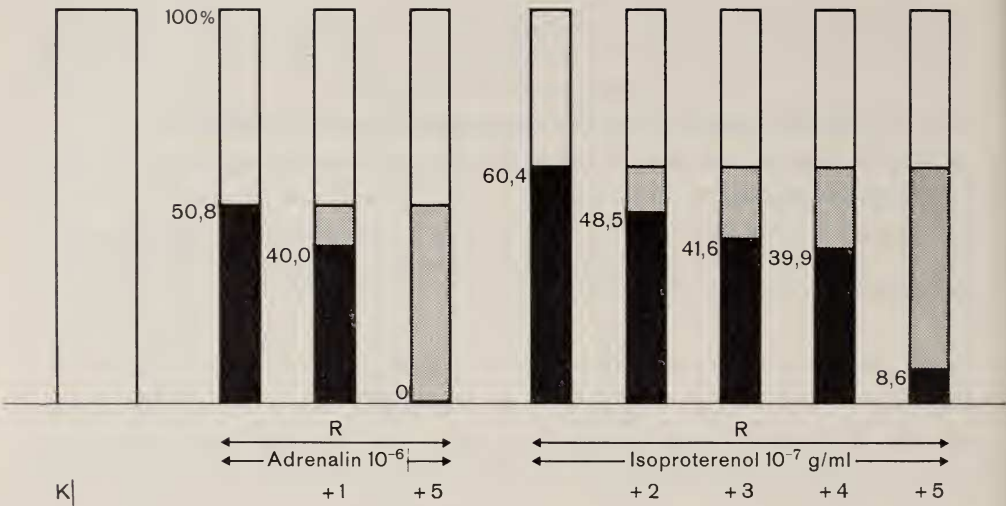


ABB. 14

Hemmung der Kontraktionsamplitude durch Katecholamine und einige ihrer Antagonisten.

- +1 = + Dibenzylin  $10^{-5}$  gml $^{-1}$ ,
- +2 = + DCI  $10^{-6}$  gml $^{-1}$ ,
- +3 = + DCI  $10^{-5}$  gml $^{-1}$ ,
- +4 = + Inderal  $10^{-6}$  gml $^{-1}$ ,
- +5 = + Inderal  $10^{-5}$  gml $^{-1}$ .

TABELLE 16

*Antagonismus des Isoproterenol/Inderal*  
*Verminderung der Kontraktionsamplitude (%)*

Isoproterenol g/ml	Inderal = ○	Inderal 10 <sup>-6</sup> g/ml	Inderal 10 <sup>-5</sup> g/ml
10 <sup>-9</sup>	7,8		
3 × 10 <sup>-9</sup>	7,3	2,3	
10 <sup>-8</sup>	34,2	10,9	
3 × 10 <sup>-8</sup>	37,6		
10 <sup>-7</sup>	56,8	39,9	8,6
3 × 10 <sup>-7</sup>			7,5
10 <sup>-6</sup>	70,6	55,2	34,0
3 × 10 <sup>-6</sup>		67,7	
10 <sup>-5</sup>			61,2

geht aus dem Zahlenmaterial der Tabelle 16 hervor. Die Dosiswirkungskurven des Isoproterenols für drei Konzentrationen Inderal (0,  $10^{-6}$  und  $10^{-5}$  g/m)l zeigen einen parallelen Verlauf (Abb. 15).

## 3. DISKUSSION

Die Ergebnisse dieses Kapitels zeigen, dass die spezifischen Hemmstoffe des vegetativen Systems den Ablauf der Lichtkontraktion nicht beeinflussen. BARR und ALPERN (1963) fanden durch Atropin ebenfalls keine Beeinflussung der Lichtreaktion. Die Beobachtung MAGNUS' (1899), dass Atropin die Pupillarreaktion der isolierten Iris verhindere, lässt sich offensichtlich nicht bestätigen. Allerdings hatte der Autor mit relativ hohen Dosen Atropin experimentiert (0,25-2,0% Atropin). Nach den Ergebnissen dieser Arbeit bewirkt eine solche

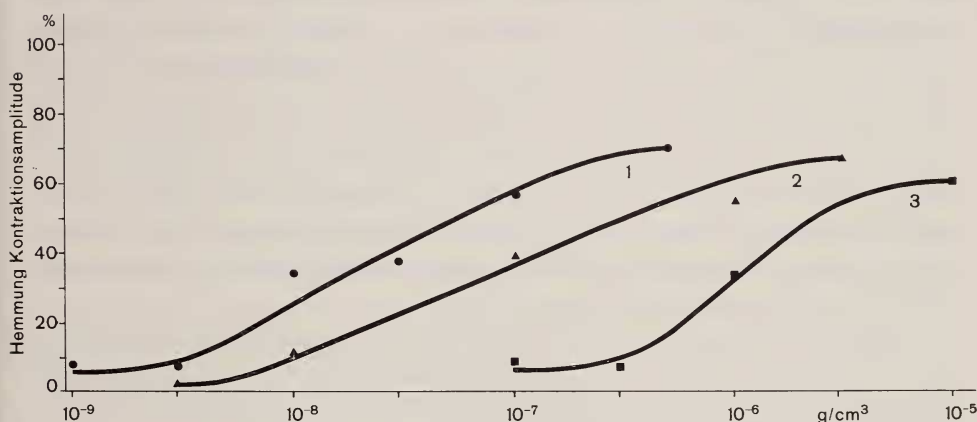


ABB. 15

Antagonismus des Inderal/Isoproterenol an der Lichtkontraktion;  
semilogarithmische Darstellung.

- 1 Ohne Inderal,
- 2 Inderal  $10^{-6}$  gml<sup>-1</sup>,
- 3 Inderal  $10^{-5}$  gml<sup>-1</sup>.

Atropinkonzentration ebenfalls eine teilweise Hemmung der Lichtkontraktion. Dieser Effekt wurde jedoch wegen der starken Dosierung des Atropins nicht näher untersucht.

Melatonin zeigt eine direkte Wirkung auf die Melanocyten der Kaltblüterhaut (LERNER et al. 1958). Da das Irisgewebe reichlich Melanin enthält, wurde der Einfluss des Melatonins auf die Lichtreaktion getestet. Die Ergebnisse zeigen, dass weder Melatonin noch Serotonin die Lichtreaktion verändern.

Von den verwendeten Agonisten des vegetativen Systems fehlt dem Acetylcholin eine Wirkung auf die Lichtreaktion. Die durch Acetylcholin partiell kontrahierte Iris kann auf einen Belichtungsreiz noch ebenso stark reagieren wie in Abwesenheit von Acetylcholin. Daraus ergibt sich, dass keine cholinergen Mechanismen an der Lichtreaktion beteiligt sind.

Die Katecholamine dagegen vermögen sowohl Amplitude und Geschwindigkeit der Kontraktion als auch der Relaxation zu vermindern. Isoproterenol ist bei der Hemmung der Lichtreaktion das aktivste der drei verwendeten Katecholamine; hingegen zeigt sich Isoproterenol bei der Dilatation der unbeleuchteten Iris als am wenigsten aktiv. Das lässt auf zwei von einander unabhängige Wege der Katecholaminwirkung in der Iris schliessen: Auf einen, durch den die Katecholamine in das Geschehen beim Ablauf der Lichtreaktion eingreifen, wobei das Isoproterenol am aktivsten ist, und auf einen andern, der zur Dilatation der Pupille führt und auf dem Isoproterenol sich als am wenigsten aktiv erweist. BARR und ALPERN (1963) testeten den Einfluss von Adrenalin  $10^{-6}$  g/ml und Phenylephrin  $10^{-5}$  g/ml auf die Lichtreaktion der isolierten Froschiris. Sie fanden keine Veränderung der Lichtkontraktion durch die Sympathomimetica. Während BARR und ALPERN die Kraftentwicklung der Irismuskulatur massen, wurde in dieser Arbeit die Verkürzung der Irismuskulatur gemessen. Es ist allerdings kaum anzunehmen, dass die unterschiedlichen Versuchsmethoden die Differenz der Resultate bedingen. Sicher ist mit den Iriden verschiedener Froscharten experimentiert worden (Artangabe fehlt bei BARR und ALPERN), und es wäre vielleicht denkbar, dass die Reaktivität der Irismuskulatur artspezifische Unterschiede zeigt, die zu den differierenden Ergebnissen führen.

Mit Hilfe des Reserpins kann die Bedeutung der sympathischen Ausgangslage für die Lichtreaktion geklärt werden. Reserpin bewirkt im Organismus eine Depletion der Katecholamine (MUSCHOLL & VOGT 1958) und erhöht dadurch die Sensibilität der Rezeptoren gegenüber exogenen Katecholaminen (FLEMING 1963). In diesem Sinne wirkt es auch an der Froschiris. Von den fünf Fröschen, die Reserpin erhielten, reagierten die isolierten Iriden dreier Tiere auf Isoproterenol mit einer wesentlich stärkeren Dilatation als im Kontrollversuch. Diese Sensibilisierung sowie der Befund GROBECKERS und HOLTZ' (1966), dass der Katecholamingehalt von Organen reserpinierter Frösche vermindert sei, sind Hinweise auf gleiche Wirkungen des Reserpins bei Fröschen wie bei Warmblütern. Der mangelnde Katecholamingehalt des Irisgewebes verändert allerdings die Lichtreaktion nicht. Die sympathische Ausgangslage an der Iris *in vitro* kann also auf die Lichtreaktion keinen Einfluss haben. Die Befunde an den Iriden reserpinierter Frösche lassen wiederum den Schluss zu, dass an der Irismuskulatur zwei verschiedene Reaktionsmechanismen möglich sind. Reserpin wirkt an der ruhenden Irismuskulatur wie an anderen glattemuskulären Organen; der Reserpineffekt ist dagegen ohne Einfluss auf den Ablauf der Lichtreaktion.

Möglicherweise ist auch ein weiterer Katecholamineffekt Ursache der verminderten Lichtkontraktion, wie sie nach Applikation der drei verwendeten Katecholamine auftritt. Nach Untersuchungen BUELBRINGS und ihrer Mitarbeiter wirkt Adrenalin als Stoffwechselaktivator in der Zelle dahingehend, dass die Membran hyperpolarisiert und unerregbar wird (AXELSSON et al. 1959, 1961,



AXELSSON & BUELBRING 1961). Im Falle der mit Katecholaminen vorbehandelten Iris bedeutete das: Gleiche Reizgrösse erzeugt wegen der Stabilisierung der Membran eine im Vergleich zum Kontrollwert verringerte Reizantwort; Amplitude und Kontraktionsgeschwindigkeit sind verringert. Da die Relaxation — wie in Kapitel II gezeigt — von Stoffwechselprozessen abhängt, wäre die Verkürzung der Halbwertszeit dieser Reaktionsphase ebenfalls mit einer Stoffwechselerhöhung durch Katecholamine zu deuten.

Der Vergleich der  $Q_{10}$ -Werte der unbeeinflussten Lichtreaktion (Tab. 2) mit denen der durch Isoproterenol antagonisierten Lichtreaktion (Tab. 15) ergibt: Der  $Q_{10}$  der Kontraktionsamplitude ist in beiden Fällen 1. Isoproterenol verändert offenbar den das Ausmass der Lichtkontraktion beherrschenden Mechanismus nicht. Die Kontraktionszeit wird unter Isoproterenol-Einfluss weniger temperatur-empfindlich. Die unmittelbar stoffwechselabhängige und dementsprechend temperaturempfindliche Relaxation verliert diese Temperaturabhängigkeit unter Isoproterenoleinfluss völlig. Während die  $Q_{10}$ -Änderung der Kontraktionszeit relativ unbedeutend erscheint, ist die Veränderung der Temperaturabhängigkeit des Relaxationsprozesses erstaunlich. Dies kann nur durch die Annahme erklärt werden, dass Isoproterenol die energetische Situation des Muskels verändert. Der Energiegewinn der Stoffwechselvorgänge muss unter dem Einfluss von Isoproterenol so gross sein, dass das Manko der bei der niederen Temperatur verlangsamteten metabolischen Prozesse gedeckt wird.

Alle Ergebnisse der letzten Versuchsreihen dieses Kapitels zeigen, dass die Kontraktionsamplituden wieder grösser werden, wenn die Katecholamine durch spezifische Blocker antagonisiert werden. Es scheint, als ob beide,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Rezeptoren, an der Katecholaminwirkung beteiligt sind. Allerdings hat das Dibenzylin in einer hohen Konzentration von  $10^{-5}$  g/ml nur einen geringen hemmenden Effekt. DCI und in besonderem Masse Inderal sind von grösserer Wirksamkeit. Die Katecholamine entfalten ihre Wirkung an der Lichtreaktion also in erster Linie via  $\beta$ -Rezeptoren.

Wie bei den Verhältnissen, die in Kapitel V dargelegt sind, soll auch jetzt die Frage nach der Art des Antagonismus, dem die verwendeten Pharmaka folgen, gestellt werden. Es handelt sich auch bei dieser Hemmung um die Konkurrenz zweier Stoffe an einem Rezeptorsystem. Die Parallelverschiebung der Kurven für drei Dosierungen Inderal bei steigender Konzentration des Isoproterenols tritt deutlicher zutage als am Beispiel des DCI-Adrenalin-Antagonismus. Die Verdrängung des Isoproterenols von seinem Platz am Rezeptor durch das Inderal muss also den Gesetzen der kompetitiven Hemmung unterliegen. Da der maximale Effekt eines Agonisten nur auftreten kann, wenn alle Rezeptorplätze von ihm besetzt sind, ist es einleuchtend, dass das in Gegenwart des Antagonisten nicht der Fall sein kann. Dementsprechend liegen auch die oberen Grenzen der Kurven in Gegenwart des Antagonisten parallel nach unten verschoben.

## SCHLUSS

Bei der Betrachtung der Lichtreaktion der isolierten Froschiris stellt sich zuerst die Frage nach dem Rezeptorsystem dieser Reaktionsfolge. Die Temperaturunabhängigkeit der Kontraktionsamplitude ( $Q_{10}=1$ ) lässt den Schluss auf eine photochemische Primärreaktion zu, die die Kontraktion weitgehend bestimmt. Da eine langdauernde, intensive Vorbeleuchtung die Amplitude der nachfolgenden Testkontraktion verringert, scheint mit der Lichtabsorption ein Zerfall der photosensiblen Substanz verbunden zu sein. Weiterhin scheint das Irisgewebe imstande zu sein, diese photolabile Substanz zu resynthetisieren: Nach kurzem Reiz und zehnminütiger Erholung vermag die Iris erneut auf einen Lichtreiz zu reagieren. Sicherlich geschieht diese Resynthese der photolabilen Substanz während der Relaxation der Iris. Da der  $Q_{10}$ -Wert dieser Phase 2,4 beträgt, ist zu vermuten, dass biochemische Prozesse am Zustandekommen dieser Resynthese beteiligt sind.

Im Falle geringer Reizdosen scheint ein Gleichgewicht zwischen dem Zerfall und dem Wiederaufbau der photolabilen Substanz zu bestehen. Es lassen sich in zehnminütigem Abstand während vieler Stunden gleichartige Lichtreaktionen auslösen. Wird die Iris mit supramaximalen Reizdosen beleuchtet, so tritt anscheinend eine Erschöpfung der photosensiblen Rezeptorsubstanz ein.

Ein solches Verhalten erinnert an das des Rhodopsins aus der Retina. Ob dieses Pigment in der Iris vorhanden und für die Lichtabsorption verantwortlich ist, kann vorläufig nicht entschieden werden. Untersuchungen über die spektrale Empfindlichkeit der Lichtreaktion führen auch bei modernen Autoren (BARR & ALPERN 1963, WEALE 1956) zu unterschiedlichen Ergebnissen, die keinen endgültigen Schluss bezüglich der Rezeptor-Eigenschaften zulassen.

Andere Gewebe, die wie die Iris reichlich Melanin enthalten, können ebenfalls Photosensibilität zeigen. Melanophoren in Gewebskulturen (BAGNARA & OBIKA 1967, OBIKA & BAGNARA 1963), Schwanzmelanophoren von *Xenopus*larven (VAN DER LEK et al. 1958) und die isolierte Froschhaut (ZETTNER 1956) zeichnen sich durch direkte Lichterregbarkeit aus. Auch lassen sich von melanin- und chlorophyllhaltigen Strukturen bei Beleuchtung Potentialschwankungen ableiten (ARDEN et al. 1966 a & b, BECKER & CONE 1966). Möglicherweise besteht ein Zusammenhang zwischen einer solchen Stimulation der melaninhaltigen Zelle durch Licht und der Lichtreaktion der Froschiris.

Am Aufbau der Lichtreaktion ist des weiteren der Effektor, die Irismuskulatur, beteiligt. Zwei antagonistisch wirksame Iris Muskeln sind vorhanden. v. CAMPENHAUSEN (1963) hat mit Hilfe einer punktförmigen Lichtquelle wahrscheinlich machen können, dass der m. sphincter pupillae, nicht aber der m. dilatator pupillae an der Lichtreaktion mitwirkt. Auf welche Weise in der Iris die Reizaufnahme mit der Bewegung der Muskulatur verknüpft sein mag, entzieht sich vorläufig allem Wissen. Potentialänderungen an den Membranen spielen auf jeden

Fall eine Rolle zwischen Erregung und Kontraktion: Die Effekte der Ionenmanipulationen bieten einen diesbezüglichen Hinweis. Mit den experimentellen Methoden dieser Arbeit lässt sich darüber nicht mehr aussagen.

Die Iriden höherer Wirbeltiere zeigen kaum eine direkte Photosensibilität; entweder ist sie schwach (HERTEL 1907), oder nur teilweise ausgebildet (VAN HERK 1928), oder gar nicht nachzuweisen (MURASE 1922). Auch die menschliche Iris scheint keine direkte Lichterregbarkeit zu besitzen (V. CAMPENHAUSEN 1967). Offenbar beherrscht bei den höheren Tieren das Zentralnervensystem die Regulation des Pupillarreflexes.

Die Reaktivität der isolierten Froschiris auf die Ueberträgersubstanzen des vegetativen Systems bietet ein Indiz für die zentralnervöse Regulation der Pupillengrösse bei den Amphibien. Weitere Hinweise auf eine zentrale Regulation ergeben sich aus Untersuchungen am Pupillarreflex des intakten Frosches (DERMAN & MONNIER 1964). Die Befunde v. CAMPENHAUSENS (1963), der eine nur gering entwickelte konsensuelle Pupillenreaktion nachweisen konnte, deuten auf eine —wenn auch geringe— Beteiligung zentraler Bahnen an der Pupillarreaktion des lebenden Frosches. Eigene Beobachtungen an der konsensuellen Pupillarreaktion einer beschränkten Anzahl von Fröschen stimmen mit denen v. CAMPENHAUSENS überein. In der isolierten Iris sind die Rezeptoren des vegetativen Systems und die direkte Lichterregbarkeit nebeneinander aktivierbar. In beiden Fällen führen die Reize zu einer Muskelkontraktion, die im ersten Falle durch die Antagonisten des vegetativen Systems zu beeinflussen ist, im Falle der Lichtreizung aber nicht. Daher muss angenommen werden, dass die Pupillarreaktion auf verschiedenen Wegen, aber am gleichen Effektor zustandekommt. Ob im Auge des lebenden Frosches ebenfalls beide Möglichkeiten der Pupillarreaktion realisierbar sind, bleibt ungewiss.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Die isolierte Froschiris ist fähig, auf kurze Lichtreize, die ihre Vorderfläche treffen, mit einer Pupillenverengung zu antworten; im Dunkeln dilatiert die Pupille wieder. Diese Reaktion kann in zehn Minuten Abstand während mehrerer Stunden ausgelöst werden. Kontraktionsamplitude und Kontraktionszeit sind von der Grösse des Reizes abhängig; Kontraktionsgeschwindigkeit und Halbwertszeit der Relaxation bleiben trotz variierten Reizgrösse konstant. Die Geschwindigkeit, mit der die Kontraktion zustandekommt und die Relaxation erfolgt, unterliegt jahreszeitlichen Schwankungen.

Die *Kontraktionsamplitude* wird vermindert durch langdauernde Vorbeleuchtung, durch Calciumentzug, Calcium- und Kaliumkonzentrationserhöhung im äusseren Milieu sowie durch Katecholamine. Die Amplitude erfährt keine Veränderung durch Temperatureinflüsse, Antagonisten des vegetativen Systems, Acetylcholin, Melatonin und Serotonin.

Die *Kontraktionsgeschwindigkeit* wird durch langdauernde Vorbeleuchtung, Ionenmanipulationen und Katecholamine verringert, durch Temperatursenkung wird sie verlangsamt.

Die *Relaxationsphase* wird verkürzt durch Isoproterenol; durch Temperatursenkung und langdauernde Vorbeleuchtung wird sie verlängert; sie bleibt unbeeinflusst durch Veränderungen im äusseren Ionenmilieu.

Die *Wirkung der Katecholamine* auf die Lichtreaktion verändert sich nicht, wenn die Tiere, deren Iriden untersucht werden, mit Reserpin vorbehandelt werden. Unter dem Einfluss von Isoproterenol verschwindet die Temperaturempfindlichkeit der Kontraktionszeit und der Halbwertszeit der Relaxation. Die Effekte der Katecholamine an der Lichtreaktion kommen in erster Linie via  $\beta$ -Rezeptoren des sympathischen Systems zustande.

Die *vegetativen Rezeptoren* der Froschiris zeigen eine Differenzierung, die derjenigen höherer Wirbeltiere gleicht. Die Froschiris verfügt über cholinerge Rezeptoren sowie  $\alpha$ - und  $\beta$ -Rezeptoren des adrenergen Systems. Vermutlich sind noch weitere rezeptive Strukturen vorhanden (z.B. für Melatonin und Serotonin).

#### RÉSUMÉ

L'iris isolé de la grenouille (*Rana esculenta*, *Rana temporaria*) est capable de se contracter après une courte stimulation lumineuse et de se dilater dans l'obscurité. Contrairement à la relaxation, l'amplitude et la vitesse de la contraction dépendent de la stimulation. La vitesse de la réaction subit les fluctuations saisonnières.

Une illumination prolongée avant l'expérience, le changement de milieu ional et les catécholamines diminuent l'amplitude et la vitesse de la contraction déclenchée par la lumière. L'amplitude n'est influencée ni par différentes substances pharmacologiques ni par une diminution de la température. En revanche, l'abaissement de la température diminue la vitesse de contraction. L'abaissement de la température et une illumination prolongée avant l'expérience augmentent la phase de relaxation. Celle-ci n'est pas influencée par le changement du milieu ional.

Les effets de la catécholamine se produisent par l'intermédiaire des  $\beta$ -récepteurs. La réaction de l'iris des animaux traités par la réserpine est la même que celle des animaux non traités. L'accélération de la vitesse de contraction par la diminution de la température est antagonisée par l'Isoproterenol.

Les récepteurs du système végétatif de l'iris de la grenouille ressemblent à ceux des vertébrés évolués.



## SUMMARY

The isolated iris of the frog (*Rana esculenta*, *Rana temporaria*) is capable of contracting after a stimulus of light of short duration and of dilatation in the dark. The amplitude and speed of contraction dependent upon stimuli of light. On the contrary the relaxation of the iris is not dependent on stimulation. The rapidity of the reaction alters with the seasons.

Pre-illumination of long duration, modifications of the ionic milieu and catecholamines reduce the amplitude and the speed of light-induced contraction. Different drugs and reduction of temperature have no effect on the amplitude. The speed of contraction is slowed by reduction of temperature and pre-illumination of long duration but is not influenced by modification of the ionic milieu.

The effects of the catecholamines take place by means of the  $\beta$ -receptors. The irides of reserpine-treated frogs react similarly to untreated animals. The acceleration of the speed of contraction by reduction of temperature is antagonised by Isoproterenol.

The receptors of the vegetative system of the frog-iris resemble those of highly evolved vertebrates.

## BIBLIOGRAPHIE

- ARDEN, G. B., H. IKEDA and J. M. SIEGEL. 1966. *New components of the mammalian receptor potential and their relation to visual photochemistry*. Vision Res. 6: 373-384.
- H. BRIDGES, IKEDA and J. M. SIEGEL. 1966. *Rapid light induced potentials common to plant and animal tissues*. Nature 212: 1235-1236.
- ARIENS, E. J. 1954. *Affinity and intrinsic activity in the theory of competitive inhibition*. Arch. int. pharmacodyn. 99/1: 32-48.
- J. M. VAN ROSSUM and A. M. SIMONIS. 1957. *Affinity, intrinsic activity and drug interactions*. Pharmacol. Rev. 9: 218-236.
- ARMSTRONG, P. B. 1942. *Cholinesterase in the amphibian sphincter pupillae*. J. cell. a. comp. Physiol. 20: 47-53.
- ARNOLD, F. 1841. *Lehrbuch der Physiologie des Menschen* II p. 887.
- AXELSSON, J., E. BUEDING and E. BUELBRING. 1959. *The action of adrenaline on phosphorylase activity and membran potential of smooth muscle*. J. Physiol. 148: 62P.
- E. BUEDING and E. BUELBRING. 1961. *The inhibitory action of adrenaline on intestinal smooth muscle in relation to its action on phosphorylase activity*. J. Physiol. 156: 357-374.
- and E. BUELBRING. 1961. *Metabolic factors affecting the electrical activity of intestinal smooth muscle*. J. Physiol. 156: 344-356.
- AZUMA, T., A. BINIA and M. B. VISSCHER. 1965. *Adrenergic mechanisms in the bullfrog and the turtle*. Amer. J. Physiol. 209: 1287-1294.

- BAGNARA, J. T. and M. OBIKA. 1967. *Light sensitivity of melanophores in neural crest explants*. *Experientia* 23/2: 155-157.
- BARR, L. and M. ALPERN. 1963. *Photosensitivity of the frog iris*. *J. gen. Physiol.* 46: 1249-1265.
- BECKER, H. E. and R. A. CONE. 1966. *Light-stimulated electrical responses from skin*. *Science* 154: 1051-1053.
- BLACK, J. W. et al. 1964. *A new adrenergic  $\beta$ -receptor antagonist*. *Lancet* 1964: 1080.
- BOHR, D. 1964. *Electrolytes and smooth muscle contraction*. *Pharmacol. Rev.* 16: 85-110.
- BRIGGS, A. and S. MELVIN. 1961. *Ion movements in isolated aortic strips*. *Amer. J. Physiol.* 201: 365-368.
- BRINK, F. 1954. *The role of calcium ions in neural processes*. *Pharmacol. Rev.* 6: 243-298.
- BROWN-SEQUARD \*. 1847. *Recherches expérimentales sur l'action de la lumière et celle d'un changement d'animaux vertébrés*. *C. R. Acad. Sciences* 4. octobre 1847 XXV: 482.
- 1859. *Journal de la physiologie de l'homme et des animaux*. Vol. II: 281.
- BUDGE, J. 1854. *Die Bewegung der Iris*. Braunschweig 1854.
- v. CAMPENHAUSEN, C. 1963. *Quantitative Beziehungen zwischen Lichtreiz und Kontraktion des Musculus sphincter pupillae vom Scheibenzüngler (Discoglossus pictus)*. *Kybernetik* 1: 249-267.
- and D. FENDER, 1967. *A direct experiment on the problem of the light sensitivity of the iris*. *Pflügers Arch.* 295: 227-231.
- CLARK, A. J. 1937. *The mode of action of drugs on cells*. Baltimore 1937.
- DERMAN, H. und M. MONNIER. 1946. *Zwischenhirn und Sehfunktion: Die Rolle des Zwischenhirns bei der pupillaren und retinalen Helligkeitsadaptierung beim Frosch*. *Helv. Physiol. Acta.* 4: 165-180.
- DRISCHEL, H. 1957. *Untersuchungen über die Dynamik des Lichtreflexes der menschlichen Pupille*. *Pflügers Arch.* 264: 145-168.
- EDGREN \*. 1879. *Upsal. laekar. Förhandl.* XI/XIII.
- EDMAN, K. A. P. and H. O. SCHILD. 1962. *The need for calcium in the contractile response induced by acetylcholine and potassium in the rat uterus*. *J. Physiol.* 161: 424-436.
- ERLIJ, D., R. CETRANGOLO and R. VALADEZ. 1965. *Adrenotropic receptors in the frog*. *J. Pharmacol. and Exp. Ther.* 149: 65-70.
- FLEMING, W. W. 1963. *A comparative study of supersensitivity to norepinephrine and acetylcholine produce by denervation, decentralization and reserpine*. *J. Pharmacol. and Exp. Ther.* 141: 173-179.
- FREUNDT, K. J. 1964. *Der Nachweis von adrenergen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Rezeptoren in der Mäuseiris*. *Pflügers Arch.* 281: 34.
- 1965. *Adrenergic  $\alpha$ - and  $\beta$ -receptors in the mouse iris*. *Nature* 206: 725-726.
- FURCHGOTT, R. F. 1954. *Dibenamine blockade in strips of rabbit aorta and its use in differentiating receptors*. *J. Pharmacol.* 111: 265-284.
- GROBECKER, H. und P. HOLTZ. 1965. *Ueber die Brenzkatechinamine im Froschherzen und in der Froschhaut vor und nach Verabfolgung von  $\alpha$ -Methyldopa*. *Experientia* 22/1: 42-43.
- GUTH, E. 1901. *Untersuchungen über die direkte motorische Wirkung des Lichtes auf den sphincter pupillae des Aal- und Froschauges*. *Pflügers Arch.* 85: 119-142.
- GYSI, E. 1879. *Beiträge zur Physiologie der Iris*. Diss. Bern 1879.
- HADJIMICHALIS, S. 1931. *Die Wirkung von Acetylcholin und Histamin auf die Iris Muskulatur des enucleierten Froschauges*. *Arch. exp. Path. und Pharm.* 160: 49-52.



- HASSELBACH, W. 1963. *Mechanismen der Muskelkontraktion und ihre intrazelluläre Steuerung*. Naturwissenschaften 50: 249-256.
- HERTEL, E. 1907. *Experimenteller Beitrag zur Kenntnis der Pupillenverengung auf Lichtreiz*. Graef. Arch. f. Ophthal. 65: 106-134.
- HESS, W. R. 1949. *Kleine Beiträge zur Biologie der Wirkstoffe*. Helv. Physiol. Acta 7: 178-188.
- HODGKIN, A. L. and R. D. KEYNES. 1955. *Active transport of cations in giant axons from Sepia and Loligo*. J. Physiol. 128: 28-59.
- HORNUNG, J. und J. STEGEMANN. 1963. *Ein nichtlineares kybernetisches Modell für die Pupillenreaktion auf Licht*. Z. f. Biol. 114: 25-48.
- KLAUS, W. und G. KUSCHINSKY. 1962. *Ueber die Wirkung von Digitoxigenin auf den zellulären Calcium-Umsatz im Herzmuskelgewebe*. Arch. exp. Path. und Pharm. 244: 237-253.
- und H. LUELLMANN, 1964. *Calcium als intrazelluläre Ueberträgersubstanz und die mögliche Bedeutung dieses Mechanismus für pharmakologische Wirkungen*. Klin. Wochenschr. 42: 253-259.
- KOELLA, W. und J. C. RUEGG. 1952. *Die Wirkung von Adrenalin auf den isolierten sphincter iridis*. Z. exp. Med. 118: 390-398.
- and SCHAEPPI, U. 1962. *The reaction of the isolated cat iris to serotonin*. J. Pharmacol. exp. Therap. 138: 154-158.
- KRAPP, J. 1962. *Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Iris der Hauskatze*. Z. f. mikroskop.-anat. Forschung 68: 418-433.
- LERNER, A. B., J. D. CASE, Y. TAKAHASHI, T. H. LEE, W. MORI. 1958. *Isolation of melatonin the pineal gland factor that lightens melanocytes*. J. Am. Chem. Soc. 80: 2587.
- MAGITOT, A. 1921. *L'Iris*. Paris 1921.
- MAGNUS, R. 1899. *Beiträge zur Pupillarreaktion des Aal- und Froschauges*. Z. f. Biol. 20: 567-606.
- MALMFORS, T. 1965. *Studies on adrenergic nerves*. Acta physiol. Scand. 64 Suppl.: 248.
- MARK, J. S. T. 1956. *An electron microscope study of uterine smooth muscle*. Anat. Record 125: 473-483.
- MUELLER, H. \* 1859. Würzb. Verhandl. X.
- MURASE, H. 1922. *Zur Frage der direkten Erregbarkeit der Säugeriris durch Licht*. Pflügers Arch. 197: 261-269.
- MUSCHOLL, E. and M. VOGT. 1958. *The action of reserpine on the peripheral sympathetic system*. J. Physiol. 141: 132-155.
- NEPVEU, A. 1907. *La photo-irritabilité de l'iris*. Diss. Paris 1907.
- OBIKA, M. and J. T. BAGNARA. 1963. *Photoc influences on Xenopus melanophores in tissue culture*. Am. Zool. 3: 495.
- PAUSCHINGER, P., H. LORKOVIC und K. BRECHT. 1964. *Wirkungen des Ca-Entzuges auf das Membranpotential und die mechanische Aktivität der isolierten phasischen Skelettmuskelfaser des Frosches*. Pflügers Arch. 278: 541-552.
- POWELL, C. E. and J. M. SLATER. 1958. *Blocking of inhibitory receptors by a dichloro analogue of isoproterenol*. J. Pharmacol. exp. Ther. 122: 480-488.
- PRECHT, H., J. CHRISTOPHERSEN, H. HENSEL. 1955. *Temperatur und Leben*. Berlin, Göttingen, Heidelberg 1955.
- QUAY, W. B. 1965 a. *Retinal and pineal hydroxyindole-o-methyltransferase activity in vertebrates*. Life Sciences 4: 983-986.
- 1965 b. *Indole derivatives of pineal and related in neural and retinal tissues*. Pharmacol. Rev. 17: 321-345.

- REIN, H. 1960. *Einführung in die Physiologie des Menschen*. Berlin 1960.
- ROMEIS, B. 1928. *Taschenbuch der Mikroskopischen Technik*. München 1928.
- RUEGG, J. C. und W. R. HESS. 1953. *Adrenalin, Noradrenalin und Acetylcholin an den Irmuskeln*. *Helv. physiol. Acta* 11: 216-238.
- SCHAEPP, U. and W. P. KOELLA. 1964 a. *Reaction of isolated pig iris sphincter to electrical stimulation and acetylcholine*. *Am. J. Physiol.* 206: 255-261.
- 1964 b. *Adrenergic innervation of cat iris sphincter*. *Am. J. Physiol.* 207: 273-278.
- 1964 c. *Innervation of cat iris dilator*. *Am. J. Physiol.* 207: 1411-1416.
- SCHUR \* 1892. *Zs. f. rat. Med.* XXXI: 1868.
- STEINACH, E. 1892. *Untersuchungen zur vergleichenden Physiologie der Iris*. *Pflügers Arch.* 52: 495-524.
- v. STUDNITZ, G. 1932. *Studien zur vergleichenden Physiologie der Iris*. *Pflügers Arch.* 229: 492-537.
- VAN DER LEK., J. DE HEER, A. C. J. BURGERS and G. T. VAN OORDT. 1958. *The direct reaction of tailfinmelanophores of Xenopus tadpoles to light*. *Acta Physiol. et Pharmacol. Neer.* 7: 409.
- VAN HERK, A. W. H. 1928. *Le rétrécissement par éclairage de la pupille de l'iris isolé*. *Arch. néerl. physiol.* 13: 534-568.
- WALLS, G. L. 1963. *The vertebrate eye*. New York 1963.
- WAUGH, W. H. 1962. *Role of calcium in contractile excitation of vascular smooth muscle by epinephrine and potassium*. *Circulat. Res.* 11: 927-929.
- WEALE, A. 1956. *Observations on the direct effect of light on the irides of Rana temporaria and Xenopus laevis*. *J. Physiol.* 132: 257-266.
- ZETTNER, A. 1956. *Ueber die Lichtreaktion der Froschhaut-Chromatophoren*. *Z. f. Biol.* 108: 210-216.

\* Zitiert nach NEPVEU (1907) und STEINACH (1892)

Gegenwärtige Adresse:

Angiologische Station der  
Medizinischen Universitätsklinik  
4000 Basel/Schweiz

---